

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E  
BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE URUCU c.v.  
CASCA VERDE DURANTE O DESENVOLVIMENTO  
DA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA**

**RENATA VIANNA LIMA**

**ALEGRE**  
**ESPÍRITO SANTO – BRASIL**  
**JULHO – 2005**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E  
BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE URUCU c.v.  
CASCA VERDE DURANTE O DESENVOLVIMENTO  
DA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA**

**RENATA VIANNA LIMA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes

Co-orientadores: Prof. Dr. Edilson Romais Schimdt

Prof. Dra. Renata M. S. Alves Meira

**ALEGRE**

**ESPÍRITO SANTO – BRASIL**

**JULHO – 2005**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E  
BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE URUCU c.v.  
CASCA VERDE DURANTE O DESENVOLVIMENTO  
DA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA**

## RENATA VIANNA LIMA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada: 01 de julho de 2005.

---

Prof. Dr. Ruimário Inácio Coelho  
Centro de Ciências Agrárias – UFES

---

Prof. Dr. Sebastião Martins Filho  
Centro de Ciências Agrárias - UFES

---

Prof. Dr. Edilson Romais Schmildt  
Centro de Ciências Agrárias – UFES  
(Co-orientador)

---

Prof. Dra. Renata M. S. Alves Meira  
Universidade Federal de Viçosa  
(Co-orientador)

---

Prof. Dr. José Carlos Lopes  
Centro de Ciências Agrárias - UFES  
(Orientador)

## DEDICATÓRIA

À minha mãe, Marly Rody Viana, que muito fez por mim durante todos esses anos dando o melhor de si para que eu chegasse até aqui e que sempre abdicou de tantas coisas para que eu pudesse ter o melhor.

Ao meu pai, Renato de Souza Lima, que mesmo estando tão distante, sempre esteve presente em minha vida.

Ao meu avô, Manoel Pereira Vianna (*in memoriam*), a minha homenagem.

Para vencermos precisamos ser fortes. Fortes não como uma onda que tudo destrói,  
mas fortes como uma rocha que tudo suporta.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus que me deu o dom da vida e que sempre esteve ao meu lado, guiando todos meus passos, me dando coragem para lutar, forças para enfrentar todos os obstáculos desse longo caminho e perseverança para vencer;

Aos meus pais pelo carinho e apoio incondicionais e por acreditarem em meu potencial;

Às amigas Aline Rodrigues Maia, Lílian Rodrigues Maia e Maria Isabela de Souza pelos bons momentos que passamos;

Aos funcionários do Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes, José Maria Barbosa e Marilda Torres Capucho, pelo apoio prestado;

Ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), pela oportunidade de realização do curso;

Ao Professor José Carlos Lopes minha eterna gratidão pela orientação, amizade, boa vontade, atenção e por sempre dedicar seu tempo e compartilhar experiências para que esta conquista fosse também um aprendizado de vida;

À Professora Renata Maria Strozi Alves Meira (UFV), pela co-orientação e grandiosa colaboração na obtenção do laminário histológico;

Ao professor Edilson Romais Schmildt pela co-orientação na realização do trabalho de germinação *in vitro* e pela amizade;

Ao Professor Ruimário Inácio Coelho pela amizade;

Ao Professor Luis César da Silva pela valiosa ajuda no inglês;

À coordenação do programa de Pós-graduação em Produção Vegetal e ao professor Sebastião Martins Filho pela amizade;

Ao Professor Gilson Fernandes da Silva pela valiosa sugestão nas análises estatísticas;

À secretária da Coordenação de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Madalena Caetana Capucho de Oliveira;

Aos funcionários e bolsistas do Laboratório de Pigmentos e Secagem do Departamento de Tecnologia de Alimentos (UFV) pela colaboração na extração do corante das sementes;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo;

A todos os amigos que pude conviver dentro e fora do CCA-UFES, e a todas aquelas pessoas que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

Renata Vianna Lima, filha de Marly Rody Viana e Renato de Souza Lima, nasceu em Alegre – Espírito Santo, em 28 de abril de 1980.

Em 1998 entrou para o Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado em Alegre – Espírito Santo, graduando-se em Agronomia em 2002.

Em 2004, nesta mesma instituição, iniciou o curso de Mestrado em Produção Vegetal com Linha de Pesquisa em Ecofisiologia de Germinação de Sementes, concluindo-o em 2005, obtendo título de Mestre em Produção Vegetal.

Ainda em 2005 foi selecionada para cursar Doutorado em Produção Vegetal na Universidade Federal do Norte Fluminense (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes – Rio de Janeiro.

## CONTEÚDO

|   |     |
|---|-----|
| RESUMO -----  | vii |
| ABSTRACT -----  | ix  |
| INTRODUÇÃO -----  | 1   |
| REVISÃO DE LITERATURA -----   | 4   |
| REFERÊNCIAS -----   | 23  |
| CAPÍTULO 1 – Caracterização histológica do tegumento de sementes de urucu e variações no teor de bixina durante a maturação fisiológica ----- | 33  |
| CAPÍTULO 2 – Germinação de sementes de urucu em diferentes temperaturas e substratos -----  | 51  |
| CAPÍTULO 3 – Germinação <i>in vitro</i> de urucu -----  | 63  |
| CONCLUSÕES GERAIS -----   | 79  |
| ANEXO -----   | 81  |
| FIGURA 1A – Planta de urucuzeiro ( <i>Bixa orellana</i> L.)-----  | 82  |
| FIGURA 2A – Botão floral, flor, frutos e sementes de urucuzeiro.-----   | 82  |

## RESUMO

LIMA, Renata Vianna, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, julho de 2005. **Avaliação das características físicas e biológicas das sementes de urucu c.v. casca verde durante o desenvolvimento da maturação fisiológica.** Orientador: Prof Dr. José Carlos Lopes. Co-orientadores: Prof. Dr. Edilson Romais Schmidt; Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Maria Strozi Alves Meira.

O urucu (*Bixa orellana* L.) é uma Bixaceae, cujas sementes apresentam baixa taxa de germinação. Este trabalho teve como objetivo estudar a maturação e a germinação de sementes de urucu. Os estudos foram conduzidos no delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 frutos e/ou 50 sementes, onde foram avaliados o vigor e a capacidade germinativa. Na maturação, cada inflorescência foi identificada na antese, e nos frutos avaliados: diâmetro, comprimento, peso, coloração, teor de água e massa seca; e, nas sementes, avaliados: massa de mil sementes, velocidade e porcentagem de germinação. Nas fases de maturação foram feitas extração e dosagem de bixina e cortes para estudo citológico. Na avaliação em diferentes temperaturas e substratos, foram utilizadas sementes intactas e sementes escarificadas, em esquema fatorial 2x6x4. Os substratos utilizados foram: a areia, a vermiculita, o pó de coco, o pó de serra, o Plantmax<sup>®</sup> e o rolo de papel Germitest<sup>®</sup> e as temperaturas foram de 20, 25, 30 e 20-30°C. Sementes intactas, sementes sem tegumento e apenas eixos embrionários foram avaliados na germinação *in vitro*, onde foi utilizado meio de cultivo MS, com diferentes concentrações de ágar (4, 6, 8 e 10 g L<sup>-1</sup>) em esquema fatorial 3x4, com duas repetições de cinco tubos e uma semente por tubo. Avaliou-se a protrusão da

raiz principal com 2 mm de comprimento e o desenvolvimento da radícula para eixos embrionários. Concluiu-se que: a maturação fisiológica, maior índice de vigor e teor de corante das sementes, ocorre aos 77 dias após a antese; há dormência após a maturação; os substratos: areia, vermiculita e rolo de papel, sob temperaturas de 25, 30, 20-30°C podem ser considerados os melhores para a germinação; e, as sementes sem tegumento, em meio contendo 4 g L<sup>-1</sup> de ágar, apresentaram maior porcentagem de germinação.

Palavras-chave: *Bixa orellana*, capacidade germinativa, vigor, período de colheita, bixina.

## ABSTRACT

The annatto (*Bixa orellana* L.) is a Bixaceae and its seeds presented low percentage of germination. This work was carried out with the objective to study the maturation and germination of annatto seeds. The experimental follows a completely randomized design with four replication using 20 fruits or 50 seeds. In this research was evaluated vigor and germination capacity; and studied seed maturation process. The following experimental procedures was realized: At each inflorescence was identified in the anthesis; for each fruit harvested was determined: diameter, length, weight, color, moisture content and dry weight; and for extracted seeds were analyzed: color, moisture content, dry weight, weight of 1000 dried seeds, bixin content index, and the speed and percentage of germination. Also it was evaluated effects of temperatures and substrates in germination of intact and scarified seeds. In this case was employed the experimental design 2x4x6 factorial. It was utilized the following temperatures: 20, 25, 30 and 20-30°C. Utilized substrates were: sand, vermiculite, fiber coconut, wood fiber, Plantmax<sup>®</sup> and paper roll. At the study of germination *in vitro*, it was utilized culture medium MS with different concentrations of agar and the experimental design was a 3x4 factorial considering: (i) intact seeds; (ii) seeds without tegument; (iii) embryo axis; and (iv) four level of agar (4, 6, 8 e 10 g

L<sup>-1</sup>). Two replications were realized using five tubes with one seed per tube. The germination criterion adopted was the protrusion of the primary root with size equal or greater than 2 mm. Results show that: (i) the physiologic maturation, better vigor index and better drift of pigment of the seeds occurred for fruits harvest 77 days after anthesis; (ii) seeds presented dormancy before physiologic maturation; (iii) the utilization of the substrates sand, vermiculite and paper roll, under temperatures of 25, 30, 20-30°C improved the germination; and (iv) seeds without tegument presented better percentage of germination in culture medium contained 4 g L<sup>-1</sup> of agar.

Index terms: *Bixa orellana*, germinative capacity, vigor harvest period, bixin.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Bixa orellana* L. é uma planta perene, oriunda das Américas Central e do Sul, com características de várzeas da Floresta Amazônica, podendo ser cultivada até 1.200 m de altitude. Pertencente à família Bixaceae, com a denominação de urucu, urucum, açafroa e açafroeira da terra (Lorenzi, 1998). É uma planta condimentar de larga utilização na culinária. No Estado do Espírito Santo, exerce grande importância, tendo em vista um número considerável de indústrias que utilizam as sementes para a fabricação de um condimento caseiro muito comum, conhecido como colorau. A comercialização é interna e para os estados do Nordeste, mais acentuadamente a Bahia, onde o plantio do urucu cresceu aproximadamente 200% na última década, surgindo como alternativa econômica à cafeicultura. Entretanto, a baixa qualidade das sementes torna a exportação praticamente inviável, mesmo sendo o Brasil considerado o maior produtor mundial, com cerca de oito mil toneladas/ano, estando a cultura presente em praticamente todos os estados brasileiros. A ineficácia na exportação se deve

**especialmente ao baixo teor de bixina produzido (Ramalho et al., 1988; Kiss, 1998).**

Atualmente há uma tendência generalizada ao uso de corantes naturais. São muitas as vantagens do corante processado ou semiprocessado, principalmente na forma de pó, como facilidade de manuseio, transporte, estocagem e diversidade do uso. Apesar dos corantes sintéticos terem menores custos de produção, maior estabilidade e capacidade tintorial, o que se constata é que, a despeito dessas vantagens, o número de aditivos sintéticos permitidos nos países desenvolvidos vem diminuindo a cada ano. E em países como Estados Unidos e Japão, já existe a proibição do consumo de alimentos que contenham corantes sintéticos, devido ao efeito cancerígeno. Em anos recentes, tem se manifestado uma consciência crescente em torno das características possivelmente tóxicas de muitos corantes (Urucum, 2005).

Segundo Gomes & Bruno (1992), a cultura do urucu vem se expandindo cada vez mais, face às perspectivas favoráveis ao aumento da demanda pelas indústrias e as exportações de seus grãos. O aumento da área cultivada e a evolução apresentada pelos sistemas de cultivo vão exigir um padrão de qualidade superior para o material propagativo.

Para que a germinação ocorra é necessário que as sementes estejam maduras, viáveis e não dormentes. Além da dormência imposta pelo tegumento, outros fatores como embrião imaturo, presença de inibidores, ausência de promotores de germinação, assim como exigências especiais de luz, temperatura, natureza do substrato podem estar associados à baixa germinação das sementes (Brasil, 1992; Bewley & Black, 1994).

Segundo Popinigis (1985), a maturação compreende as transformações morfológicas, fisiológicas e funcionais que se processam no óvulo fecundado, que culmina com o atingimento do peso máximo de massa seca, estágio em que a semente atinge também maior capacidade germinativa e vigor. Na espécie *Bixa orellana* L., segundo Amaral et al. (2001), a maturação das sementes culmina com aumento da impermeabilidade do tegumento à água, mecanismo de dormência imposta pelo tégmen, sendo necessária, então, a escarificação das sementes para que as mesmas germinem.

Embora a propagação desta espécie seja feita, na maioria das vezes por sementes, por ser mais fácil e econômica do que a propagação vegetativa e a micropropagação (Pereira et al., 1995), e por ser o principal método de reprodução das plantas na natureza e o mais utilizado pelos agricultores (Ramalho et al., 1988; Hartmann et al., 1990), a propagação *in vitro* propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção em curto espaço de tempo e

em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade vegetal (Maciel et al., 2000). Embriões cultivados *in vitro* permitem, além de outros usos, superar a dormência em certos tipos de sementes (Pasqual & Pinto, 1988).

O presente trabalho teve por objetivos avaliar as características físicas e biológicas das sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde durante o desenvolvimento da maturação fisiológica, visando identificar o período de florescimento do urucuzeiro na região de Alegre-ES, conhecer o ponto de maturação fisiológica, entender os mecanismos de germinação, avaliar métodos para melhorar o processo germinativo, avaliar diferentes substratos e temperaturas para germinação, analisar a estrutura do tegumento para entender os mecanismos de dormência de suas sementes e quantificar o pigmento bixina durante as fases de maturação.

## REVISÃO DE LITERATURA

### O urucu

Muitas informações são encontradas em relação à origem do urucuzeiro (*Bixa orellana* L.). Alguns autores afirmam que é uma espécie originária da América Central e cultivada nos trópicos em todo mundo podendo atingir de 3 a 5 m de altura. Outros afirmam que é originária da América do Sul, mais especificamente da região amazônica (Urucum, 2005).

Suas folhas são dentadas, cordiformes e pontudas, medindo de 8 a 11 cm de comprimento. As flores são grandes, ornamentais, de coloração rósea, branca ou lilases, medindo de 3 a 5 cm de diâmetro, reunidas em panículas terminais de 10 a 15 cm de comprimento e pedúnculo com pubescência ferrugínea, escamiforme e com número de flores variáveis. Possui cinco sépalas castanho-esverdeadas de aproximadamente 1 cm de comprimento; cinco pétalas grandes, arredondadas, com tamanho variando de 1,5 a 2,5 cm de comprimento; o pistilo e os numerosos estames se apresentam com 1,5 cm de comprimento, sendo o primeiro composto de ovário súpero e unilocular, estilete curto e estigma bilobulado. A floração é escalonada, ou seja, primeiro abrem as flores da parte superior e depois as da parte inferior. Os frutos constituem-se por cápsulas ovóides e cada uma delas contém de 30 a 40 sementes cobertas por uma polpa mole e vermelha. As sementes são grosseiras, obovóides e à medida que vão amadurecendo a polpa à sua volta vai endurecendo, tornando-se sólida (Barroso, 1978; Correa, 1978; Lorenzi, 1998).

Segundo Cavalieri (1991), em uma planta adequadamente cultivada, pode-se alcançar uma produtividade de 200 a 300 gramas de semente/pé no primeiro ano

e até 6.000 gramas de semente/pé no quinto ano.

Os indígenas já usavam seu corante, obtido em misturas, para colorir suas peles, como ornamentação, bem como forma de proteção contra os raios solares e picadas de insetos que infestavam as matas, e na coloração de objetos de cerâmica e outros vasos de uso doméstico.

Possui tronco de 15 a 25 cm de diâmetro. Madeira com cerne de coloração variada, castanho-clara a amarelada, e alburno branco e suave, leve ( $0,4 \text{ g cm}^{-3}$ ), porosa, macia, de baixa durabilidade natural. Não usada em construção em razão da baixíssima resistência à umidade, servindo apenas para lenha (Ramalho et al., 1988; Lorenzi, 1998; Cândia, 2000).

Seu nome – urucu – tem origem na palavra tupi "uru-ku", que significa vermelho (Urucum, 2005), mas a espécie também é denominada de urucum, açafroa e açafroeira-da-terra mais especificamente na Bahia (Lorenzi, 1998).

O urucuzeiro é uma angiosperma, dicotiledônea, pertencente à família Bixaceae, cujo gênero *Bixa* é composto pelas espécies *Bixa orellana* L.; *B. arborea*, *B. americana*, *B. urucurana*, *B. purpurea*, *B. upatensis*, *B. tinetoria*, *B. oviedi* (Lima, 1990).

Dentre as espécies citadas, a *B. orellana* L., juntamente com suas variedades, é a mais explorada e cultivada economicamente (Ramalho et al., 1988).

É uma planta que vegeta bem em locais onde a temperatura oscila entre 24 e 27°C, sendo a temperatura de 25°C considerada a ideal, havendo necessidade de precipitação abundante (acima de 1.200 mm anuais), devendo o solo ser bem drenado. Por ser uma planta que apresenta os processos fisiológicos de vegetar, florescer e frutificar, praticamente durante o ano todo, a ausência de chuvas, em períodos superiores a três meses, poderá ser prejudicial para sua produtividade. O urucuzeiro pode ser cultivado desde o nível do mar até altitude de 1.200 m, sendo a ideal entre 100 e 800 m. Nessa amplitude, tem-se obtido teores mais elevados de bixina. Apresenta ampla margem de adaptação a diversos tipos de solos, compreendendo desde a faixa litorânea, estendendo-se ao agreste, desde os Luvisolos Crômicos até Nitossolos Vermelhos Eutróficos, Neossolos Regolíticos Eutróficos Típicos e Latossolos Vermelho-Amarelos. Vegeta bem em terrenos de fertilidade média, suportando também baixos níveis de nitrogênio, fósforo e potássio (Ramalho, et al., 1988; Cavalieri, 1991).

Em solos compactados o desenvolvimento vegetativo ocorre de forma lenta e os pantanosos são impróprios ao seu cultivo. É recomendável solos com fertilidade variando de média a alta, pH entre 5,5 e 7,0, bons níveis de cálcio e magnésio, ausência de alumínio e preferencialmente úmidos, como aqueles encontrados em beiras de rios (Lorenzi, 1998; Franco et al., 2002).

As sementes do urucu contêm uma porcentagem muito alta de vitaminas, sendo recomendada como elemento de extrema vitalidade na nutrição humana. Em setores não alimentícios, o urucu tem emprego na indústria de cosméticos (pó faciais, batons, loções, bronzeadores e cremes), na farmacopéia (antifebris, anti-diarréicos, expectorantes, tônicos cardíacos, cicatrizantes, anti-hemorrágicos, além de chás feitos das sementes, servindo como fonte de beta caroteno), na indústria têxtil (tingimentos), tintas (pigmentos para óleos, esmaltes, vernizes e graxas), filmes e ceras (Ramalho et al., 1988; Caran, 1997).

O urucuzeiro pode ser utilizado ainda como planta ornamental e na recuperação de áreas degradadas devido a sua rapidez de crescimento em ambientes abertos, estando associado a outras espécies (Lorenzi, 1998).

A propagação desta espécie é feita, na maioria das vezes por sementes, sendo este, o principal método de reprodução das plantas na natureza, além de ser o mais utilizado pelos agricultores (Ramalho et al., 1988; Hartmann et al., 1990). A propagação por sementes é mais fácil e econômica do que a propagação vegetativa e a micropropagação (Pereira et al., 1995). A propagação vegetativa pode ser feita através de estacas enraizadas, borbulha ou empregando-se brotos terminais (tecidos meristemáticos) (Cavalieri, 1991).

### **Maturação fisiológica**

Estudos sobre o desenvolvimento e a maturação de sementes visando estabelecer o ponto de máximo vigor e a época mais adequada à colheita são considerados de fundamental importância no campo de tecnologia e produção de sementes (Barbedo et al., 1994).

Ao longo do processo de maturação as sementes sofrem modificações no teor de umidade, no tamanho, no peso, no poder germinativo, no vigor, nos teores de proteínas e de lipídios. A fase de máxima qualidade das sementes, que coincide com a maturidade fisiológica, compreende as transformações morfológicas,

fisiológicas e funcionais que sucedem no óvulo fertilizado, que é atingida quando a semente apresenta máximo conteúdo de massa seca e acentuada redução no teor de água, alterações visíveis no aspecto externo de frutos e sementes, culminando com máxima capacidade germinativa e vigor das mesmas (Popinigis, 1985; Carvalho & Nakagawa, 2000). Nesse ponto, a semente apresenta melhor nível de qualidade, devendo ser colhida.

A época ideal para a colheita das sementes, devido à variação que pode ocorrer em função da espécie, da cultivar e das condições de ambiente é identificada pelo estudo do estabelecimento de alguns parâmetros denominados índices de maturação (Edwards, 1980). Vários autores sugerem proceder à etiquetagem das flores na antese e coletar periodicamente as sementes para acompanhamento desses parâmetros, modificações morfológicas e fisiológicas como teor de água, tamanho, forma, cor, conteúdo de massa fresca, conteúdo de massa seca, capacidade germinativa e vigor, até a fase em que a semente deixa de receber nutrientes da planta (Delouche, 1981; Popinigis, 1985; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Entretanto, estes parâmetros a serem utilizados na identificação do ponto de maturidade fisiológica para cada espécie variam ainda, de acordo com suas características, com base nas modificações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem durante o desenvolvimento do fruto e/ou da semente e o entendimento deste processo dentro do habitat natural da espécie, que além de permitir estabelecer o ponto de maturidade fisiológica da semente, auxiliam na avaliação da extensão de sua deterioração em condições de campo (Aguiar et al., 1993; Barbedo et al., 1994).

Carvalho & Nakagawa (2000) relatam que após as sementes atingirem a maturidade fisiológica, em espécies de frutos secos, a planta acelera a desidratação das mesmas e a partir daí ocorre a deiscência dos frutos.

Para Crookston & Hill (1978), o índice de maturação, baseado na redução do tamanho das sementes devido à perda de umidade, é o mais preciso. No entanto, para Popinigis (1985) e Carvalho & Nakagawa (2000) a semente atinge o ponto de maturidade fisiológica quando alcança o máximo peso de massa seca, ponto após o qual, a semente recebe nada, ou quase nada, da planta onde ela se formou.

Teoricamente, o ponto ideal para se realizar a colheita, seria o momento em que a semente atingisse o ponto de maturidade fisiológica, mas nem sempre essa

prática é possível, pois neste estágio, a semente normalmente ainda apresenta elevados teores de umidade, e isso traz sérias dificuldades tanto para o beneficiamento, quanto para o armazenamento (Nakagawa, 1987).

A determinação adequada da idade de colheita dos frutos para obtenção de sementes pode trazer vantagens. A colheita precoce encurtará o tempo de permanência em campo, diminuindo a exposição às intempéries, como também ao ataque de microrganismos e insetos (Barbedo et al., 1994). Por outro lado, essa antecipação poderá resultar em baixa porcentagem de germinação com a ocorrência de sementes imaturas e com alto teor de umidade (Sediyama et al., 1991).

Para as sementes de soja, Santos et al. (1996) afirmam que o retardamento da colheita após atingirem o ponto de maturação fisiológica prejudicou a produtividade, assim como a germinação e o vigor das sementes, além de ter provocado aumento na incidência de fungos.

As sementes de *Bixa orellana* L. devem ser colhidas quando maduras e não devem ser secas ao sol, pois essa prática provoca uma diminuição da capacidade germinativa, aparecendo um maior número de sementes duras (São José & Rebouças, 1990), ocorrendo uma alteração na qualidade fisiológica de acordo com o estágio de maturação das mesmas (Kato et al., 1992). Um exemplo é o aumento da impermeabilidade do tegumento à água. Rolston (1978) verificou que, durante o desenvolvimento das sementes desta espécie, o tegumento interno se espessa acentuadamente, atingindo um padrão semelhante ao das leguminosas arbóreas, após a maturação.

Para que germinem, as sementes precisam de tratamentos especiais, como a escarificação. Esta escarificação pode ser feita utilizando-se tratamentos especiais com solventes orgânicos (álcool e acetona), ácidos fortes (ácido sulfúrico concentrado), água quente (termoterapia), além do aquecimento a seco e escarificação mecânica, onde se provoca um desgaste na testa das sementes (Amaral et al., 1995).

**Na fase da maturidade, o período decorrido para a germinação das sementes é um aspecto muito importante da qualidade das mesmas, e deve ser considerado quando se visa a produção de mudas (Leonhardt et al., 2001).**

### Substâncias de reserva

Durante o desenvolvimento, a semente de uma angiosperma passa por três fases distintas: a histodiferenciação ou morfogênese inicial, a expansão celular concomitante à fase de acúmulo de reserva e a fase final, que corresponde ao dessecamento (Thaker, 1999).

O dessecamento constitui um evento integrante do processo do desenvolvimento da maioria das sementes, especialmente as ortodoxas (Kermode et al., 1986), que são aquelas sementes relativamente pequenas, com taxa metabólica e respiração mais baixas, podendo ser armazenadas em menores temperaturas e com reduzido teor de água por período prolongado de tempo (Roberts, 1973; Bewley & Black, 1994). Esse teor de água pode ser próximo de 5% (Villiers, 1978).

A determinação da idade fisiológica das sementes pode ser caracterizada através das alterações que ocorrem durante o desenvolvimento das mesmas. Para essa determinação, os parâmetros mais comumente utilizados estão relacionados à morfologia interna (Borisjuk et al., 1995).

As sementes imaturas de urucu não germinam durante os primeiros estádios de desenvolvimento. Este fato está relacionado à insuficiência de material de reserva, quando nesses estádios, os grãos de amido são bem pequenos, tem forma elíptica e aparecem em pequena quantidade. Com o desenvolvimento das sementes, estes grãos tornam-se maiores, com formatos mais arredondados e presentes em maior quantidade (Amaral et al., 2000; Amaral et al., 2001).

O amido é o carboidrato de reserva mais comumente encontrado nas sementes (Singh & Juliano, 1977; Kreis & Doll, 1980), mas polissacarídeos de reserva de parede celular podem estar presentes constituindo-se no principal carboidrato de reserva (Buckeridge & Reid, 1996).

O amido é acumulado na forma de grânulos insolúveis em água e depositado em organelas subcelulares, denominadas amiloplastos. Em sementes de cereais representa de 60 a 90% do peso de massa seca e em sementes de leguminosas pode chegar alcançar valores entre 30 e 40% (Mercier, 1985).

O amido é um polissacarídeo composto por dois polímeros de glicose: um linear contendo resíduos de glicose por ligações glucosídicas alfa-1,4 (amilose) e outro ramificado que é uma glicana, contendo ligações alfa-1,4 e alfa-1,6 (amilopectina), sendo que a proporção de amilose e amilopectina na composição do amido varia de acordo com a espécie e com a variedade (Akazawa, 1965; Shannon et al., 1970; Dunn, 1974; Bewley & Black, 1994).

Os grãos são semicristalinos e exibem birrefringência em forma de cruz de malta (Banks & Munir, 1980; Lopes, 1990). O formato dos grãos pode mudar, desde formas mais esféricas até mais elípticas, e esse formato é bastante determinado pelo conteúdo de amilose, pois o grão de amido se torna mais esférico na medida em que ocorre aumento no conteúdo de amilose (Bewley & Black, 1994).

As proteínas de reserva são armazenadas em organelas subcelulares denominadas corpos protéicos. Estes corpos protéicos desenvolvem-se paralelamente ao acúmulo de proteínas e apresentam três funções principais: proteção da proteína de reserva contra a degradação enzimática durante a formação das sementes, armazenamento de grande quantidade de proteínas sob forma concentrada e compartimentação lítica das células do tecido de reserva o qual se expressa durante a germinação (Varner & Schidlovsky, 1963; Murray, 1984; Lopes, 1990; Bewley & Black, 1994).

As sementes sempre apresentam oligossacarídeos, que são os primeiros tipos de reserva a serem gastos no processo inicial de germinação (Bewley & Black, 1994).

#### Bixina

Entre os corantes naturais, o urucu é o segundo em importância econômica, ficando atrás apenas do caramelo, sendo o Peru, Brasil e Quênia os maiores produtores mundiais (Mercadante et al., 1997a, b).

O corante do urucu é um dos poucos permitidos pela OMS, devido a fatores como ausência de toxicidade, podendo ser usado com segurança para

**colorir manteigas, margarinas, queijos, salsichas e não altera o sabor dos alimentos, tendo seu emprego ainda na alimentação animal, além do seu preço ser inferior aos corantes sintéticos (Ramalho et al., 1988).**

Dentre os aditivos naturais, o urucu veio conferir maior importância sócio-econômica, visto que de suas sementes podem ser obtidos corantes naturais de diversas tonalidades, que vão do amarelo ao castanho, passando pelo vermelho. Portanto, o desenvolvimento de tecnologias de processamento mais eficazes poderá contribuir significativamente na qualidade do produto final (corante), bem como no uso mais racional da matéria-prima. Ao mesmo tempo, o desenvolvimento de tecnologias apropriadas para a extração dos pigmentos terá, seguramente, reflexos sócio-econômicos nas regiões menos exploradas, onde podem ser produzidas sementes com teores em níveis bem mais elevados de bixina, principal corante desta planta (Urucum, 2005).

**As matérias tintoriais de cor amarela (orelina) e vermelha (bixina), oxidáveis pela ação da luz, são extraídas da polpa que envolve as sementes constituídas de fina camada resinosa de coloração vermelho-alaranjada, e que pode atingir valores de até 4% do grão integral, e esse excelente corante natural é grandemente empregado na culinária, em indústrias alimentícias, de impressão e de tecidos (Correa, 1978; Lorenzi, 1998).**

As sementes devem conter um teor de bixina próximo a 3%, sendo o mínimo aceitável de 2,5%. Para alcançar esse teor, é crucial acertar o momento da colheita. As sementes apresentam mais corantes, quando as cachopas (frutos) ficam secas no próprio pé. A bixina pertence à classe dos carotenóides e está presente nas sementes entre 70 e 80%. É utilizado para colorir alimentos gordurosos, sendo o restante um pigmento de cor amarela e com pequenas quantidades de substâncias cujas estruturas estão relacionadas com a bixina, incluindo a norbixina, derivada do norbixato de sódio, que é solúvel em água e se presta à coloração de produtos não-oleosos. A norbixina, depois de acidificada, torna-se um corante lipossolúvel. Pode ocorrer uma alteração nos teores de corantes de acordo com o estágio de maturação das sementes (Angelucci, 1989; Kato et al., 1992).

**A bixina pode ser utilizada em alimentos juntamente com antioxidantes para aumentar a sua estabilidade. Sendo estável em alimentos processados na presença de agentes redutores e oxidantes, a bixina supera algumas das**

**desvantagens dos corantes sintéticos do tipo azo, que têm elevada reatividade em relação aos agentes oxidantes (cloro, hipoclorito) e redutores (dióxido de enxofre, ácido ascórbico e cítrico e alguns flavorizantes). Esta reatividade dos corantes artificiais causa descoloração nos alimentos industrializados (Urucum, 2005).**

## Germinação

### **Fatores externos**

A germinação é um processo que tem início com a absorção de água pela semente e termina com o início do alongamento do eixo embrionário (Ching, 1972, Bewley & Black, 1994). Neste ponto, a protrusão do embrião através do tegumento é o ponto crucial que identifica a germinação da semente (Brown, 1972; Bewley & Black, 1994), que equivale à emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para originar uma planta normal sob condições favoráveis de campo (Brasil, 1992). Entretanto, para que ela ocorra é necessário, além dos substratos, que haja disponibilidade de água em níveis ideais, de acordo com o tipo de semente; composição de gases e temperatura adequada, além de luz que é exigida para certas espécies; que a semente esteja viável, isto é, que o embrião esteja vivo e capaz de germinar e que esteja no estado quiescente, de tal forma que, quando submetida às condições consideradas ideais, ela germine (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989).

O conhecimento das condições ideais para a germinação da semente de uma determinada espécie é de fundamental importância, principalmente, pelas respostas diferenciadas que ela pode apresentar em função de diversos fatores, como viabilidade, dormência, condições de ambiente, envolvendo água, luz, temperatura, oxigênio e ausência de agentes patogênicos, associados ao tipo de substrato para sua germinação (Brasil, 1992; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

## **Água**

A água representa 70% ou mais do peso do protoplasma das células de função ativa e, na sua ausência, a planta é incapaz de conduzir qualquer dos seus processos biológicos. A absorção de água dá início a uma série de processos físicos, bioquímicos e fisiológicos no interior da semente, que resultam na emergência da plântula, caracterizando-a como elemento de fundamental importância no processo germinativo das sementes, influenciando tanto na porcentagem como na uniformidade de germinação. Sua absorção se dá tanto no estado líquido como no de vapor, sendo este processo afetado pela constituição dos tegumentos e pela quantidade de água disponível no meio ambiente (Toledo & Marcos Filho, 1977; Ferri, 1985).

Durante o processo germinativo a água amolece os tegumentos e provoca o aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, resultando na ruptura dos tegumentos e na protrusão da raiz principal. Ela também favorece: a penetração do oxigênio na semente; dilui o protoplasma; ajuda a conduzir funções de digestão, respiração, assimilação ou crescimento e torna possível a transferência dos nutrientes solúveis dos tecidos de reserva para os pontos de crescimento do embrião, onde são necessários para a formação de um novo protoplasma (Toledo & Marcos Filho, 1977; Bewley & Black, 1994).

Lopes et al. (2004b), estudando os efeitos de diferentes lâminas de água na germinação e vigor de sementes de feijão-de-vagem, cultivar Manteiga Teresópolis, obtiveram aumento na massa fresca e comprimento da raiz principal das plântulas com aumento da lâmina de água de irrigação até o nível de 125%.

### **Temperatura**

Dentre as condições ambientais que afetam o processo germinativo, a temperatura exerce uma influência significativa (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). A temperatura tem efeito ainda na absorção de água pela semente e as reações bioquímicas que regulam o metabolismo necessário para iniciar o processo germinativo (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Os efeitos da temperatura sobre a germinação podem ser profundamente influenciados pela condição fisiológica das sementes. Em sementes recém-colhidas a temperatura ótima, é geralmente diferente daquela verificada para as mais velhas da mesma espécie (Toledo & Marcos Filho, 1977).

A temperatura ótima propicia uma porcentagem de germinação máxima em menor espaço de tempo, enquanto que temperaturas máximas e mínimas são pontos nos quais as sementes germinam muito pouco (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). As temperaturas máximas aumentam a velocidade de germinação, mas somente as sementes mais vigorosas conseguem germinar, reduzindo assim a porcentagem de germinação. Temperaturas mínimas reduzem a velocidade de germinação e alteram a uniformidade de emergência e, talvez, pelo aumento do período de exposição das sementes, pode ocorrer o aumento do ataque de patógenos (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Andrade & Martins (2003), estudando a influência da temperatura na germinação de sementes de jabuticaba, verificaram que esse fator exerceu influência na porcentagem de germinação, sendo que nas temperaturas mais baixas (15 e 20°C) foi verificada uma maior porcentagem de germinação para os três clones utilizados na pesquisa. Já com o uso de temperaturas mais altas (35°C), dois clones apresentaram somente 8% de germinação, enquanto que no terceiro foram verificados 35%, evidenciando também variabilidade entre os clones.

Maior porcentagem de germinação e maior índice de velocidade de germinação de sementes de branquilha foram observados em temperatura alternada de 20-30°C (Santos & Aguiar, 2000).

## **Luz**

A luz também é outro fator de grande influência na germinação de sementes. Ela promove o controle respiratório, a síntese de enzimas e de hormônios, exerce efeito sobre a permeabilidade dos tegumentos e metabolismo dos lipídeos. Certas condições desfavoráveis para a germinação podem ser compensadas pela luz, e sementes recém-colhidas e/ou pequenas são mais beneficiadas pela presença deste fator (Toledo & Marcos Filho, 1977). A regulação da germinação pela luz se dá através da molécula de proteína, de coloração verde-azulada, denominada fitocromo, que se apresenta em duas formas, sendo uma com absorção máxima a 660 nm, fitocromo vermelho e a outra a 730 nm, fitocromo vermelho extremo.

Sementes que têm a germinação beneficiada pela presença da luz são chamadas fotoblásticas positivas, e aquelas que têm a germinação beneficiada pela ausência desse fator, são chamadas fotoblásticas negativas (Bewley & Black, 1994).

De acordo com Figliolia et al. (1993), a luz nem sempre é fator imprescindível e limitante para a germinação de sementes, ou seja, existem espécies que são indiferentes e germinam tanto na presença como na ausência de luz. O mecanismo de controle da germinação pela luz é similar àquele que controla a indução floral, o alongamento do caule e a formação de pigmentos em frutos e folhas.

**Quando se fala em qualidade da luz, as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) ressaltam que algumas espécies de sementes são beneficiadas pela luz fluorescente fria e branca, a qual promove germinação mais efetiva do que a luz solar ou proveniente de filamentos incandescentes que contêm radiação infravermelha que é inibidora da germinação.**

Em sementes de *Miconia cinnamomifolia*, Lopes & Soares (2003) verificaram que a germinação somente ocorria em presença de luz, caracterizando-as como fotoblásticas positivas. Silva & Matos (1998) encontraram resultados semelhantes quando testaram a influência da luz na germinação de sementes de coaçu, que foram caracterizadas como fotoblásticas positivas por apresentarem maior velocidade de germinação, quando mantidas sob luz branca e vermelha. Segundo Ikuta & Barros (1996), sementes de marcela também apresentam essa mesma característica, ou seja, são fotoblásticas positivas, germinando apenas em presença de luz. Fato também observado em sementes de *Marcetia taxifolia*, que apresenta baixa taxa de germinação quando submetidas ao escuro contínuo (Silveira et al., 2004).

Lopes et al. (2004a), estudando o efeito da luz na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de cenoura, obtiveram maiores valores na primeira contagem de germinação sob radiação de  $13,8 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Resultados similares foram encontrados por Lopes & Souza (2003) em sementes de bucha dos paulistas. Maior massa seca foi encontrada sob radiação de  $582,2$  e  $13,8$   $82,2$  e  $13,8 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , e maior índice de velocidade de emergência foi encontrado sob radiação de  $13,8 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Lopes et al. (2002), avaliando a germinação de sementes de calabura, verificaram que as sementes não germinavam em presença de luz e que maior porcentagem e velocidade de germinação foram obtidas sob luz branca e no comprimento do vermelho, caracterizando-as como fotoblásticas positivas.

## **Oxigênio**

Além da luz, o oxigênio exerce um papel fundamental na germinação das sementes devido ao processo respiratório, havendo a necessidade de grandes quantidades deste elemento à disposição para que a mesma ocorra normalmente. A respiração é muito ativa nas sementes que estão germinando, tal como ela é ativa em todos os tecidos onde o crescimento e outras atividades celulares estão se processando. A taxa de respiração depende do teor de umidade; em sementes secas é baixa, com pequena utilização do oxigênio, e pode ser inibida pela redução da aeração (Toledo & Marcos Filho, 1977; Bewley & Black, 1994).

Nas sementes, após a secagem, durante o período de armazenamento, o oxigênio se difunde pelos tecidos protetores, e participa da redução e eliminação dos inibidores presentes (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

O consumo de oxigênio no tegumento de algumas espécies é atribuído à oxidação de vários compostos fenólicos, tais como: o floridzin, o ácido clorogênico e o ácido paracumaril-químico, que se encontram presentes nos tegumentos (Cícero, 1986).

No embrião, a presença de substâncias químicas inibidoras da germinação ocorre com frequência, sendo que essas substâncias atuam em interação com fatores ambientais, como a temperatura e a disponibilidade de oxigênio (Popinigis, 1985).

Em sementes embebidas, a água em contato com as glumelas forma um filme, que dificulta o acesso do oxigênio ao embrião (Côme & Tissaqui, 1973). Entretanto, o período de exposição das sementes às concentrações elevadas de oxigênio, durante a fase de germinação, também pode ser prejudicial (Menezes et al., 1987).

## **Substrato**

O substrato corresponde ao meio onde a semente é colocada para germinar e possui a função de manter as condições adequadas para germinação e para o desenvolvimento das plântulas (Piña-Rodrigues & Vieira, 1988; Figliola et al., 1993). Além de manter a disponibilidade de água, é necessário que ele mantenha aeração

em proporções adequadas (Popinigis, 1985), evitando a formação de uma película de água envolta da semente (Villagomez et al., 1979). Os fatores como: a estrutura, a aeração, a capacidade de retenção de água e o grau de infestação de patógenos, podem variar de um substrato para outro, favorecendo ou prejudicando a germinação das sementes (Barbosa & Barbosa, 1985).

De acordo com as Regras para Análises de Sementes – RAS (Brasil, 1992), deve-se levar em consideração na escolha do substrato: o tamanho da semente, a exigência da mesma em relação à quantidade de água, sua sensibilidade ou não em relação à luz e a facilidade que o substrato oferece para a realização das contagens e avaliação das plântulas. Dentre vários substratos testados, a areia e a vermiculita têm sido considerados de excelente qualidade para a germinação de sementes, uma vez que apresentam baixa contaminação de microrganismos (Figliola et al., 1993). No entanto, Iossi et al. (2003) não recomendam o uso de vermiculita para testes de índice de velocidade de germinação em sementes e plântulas de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii*), e recomendam o esfagno como o melhor substrato para características como porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea e massa seca de plântulas.

### **Dormência**

Existem sementes, que mesmo estando presentes em condições ideais de água, gases e temperatura, não conseguem iniciar o processo de germinação. Estas sementes são ditas dormentes e precisam de tratamentos especiais para que possam germinar (Amaral et al., 1995).

Para que a germinação ocorra com eficiência, é necessário que as sementes estejam viáveis e não dormentes. Além da dormência imposta pelo tegumento que causa a impermeabilidade à água, a dormência pode ainda ser atribuída a outros fatores, como: o embrião imaturo, a presença de inibidores, a ausência de promotores de germinação, e as exigências especiais de luz ou temperatura (Bewley & Black, 1994), além do efeito inibitório dos cotilédones (Taiz & Zeiger, 2004).

Grande parte das sementes, após a maturação, apresenta-se dormente, com um índice de germinação de apenas 10 a 20% (Ghersa et al., 1979). Boa parte dessas sementes germina anualmente, caem no solo, mas a viabilidade e a

dormência podem ser mantidas por períodos superiores a seis anos quando as sementes caem em solos não trabalhados (Leguizamón, 1986).

A dormência das sementes é uma característica geralmente indesejável na agricultura, onde são requeridos rápida germinação e crescimento. Entretanto, durante o desenvolvimento da semente, algum grau de dormência pode apresentar como vantagem a perpetuação das espécies (Popinigis, 1985). Segundo Jacob Júnior et al. (2004), essa dormência é muito importante para espécies forrageiras, pois é através dela que se mantém um banco de sementes no solo, permitindo que a pastagem se forme sob as mais variadas condições. Mas, durante o estabelecimento a dormência deve ser removida para que a germinação ocorra de forma homogênea.

Sementes de urucu em desenvolvimento não embebem nos primeiros estádios de maturação. Este comportamento pode estar associado ao fato de que nestes estádios, já apresentam elevados teores de hidratação, devido aos tegumentos ainda se apresentarem altamente permeáveis, e à medida que a semente se desenvolve, a embebição aumenta devido à diminuição do seu potencial hídrico. No último estágio de desenvolvimento, os tegumentos tornam-se altamente impermeáveis e rígidos, diminuindo a taxa de embebição (Amaral et al, 2000).

Quando a dormência está relacionada a aspectos estruturais, que afetam a permeabilidade à água e/ou difusão de gases, pode-se recorrer à escarificação das sementes com ácido (Williams & Webb, 1959, Smith, 1971; Fernandez, 1978; Whiteman & Mendra, 1982).

Rolston (1978) mostrou que durante o desenvolvimento das sementes de *Bixa orellana* o tegumento interno se espessa muito apresentando, nas sementes maduras, um padrão semelhante ao das leguminosas arbóreas, que apresentam impermeabilidade à água, um tipo de dormência muito freqüente nessa família e em Malvaceae, Geraniaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Solanaceae e Liliaceae (Kramer & Kozlowiski, 1972; Roberts, 1972; Carvalho & Nakagawa, 2000), como verificado em *Senna macranthera* (Santarém & Aquila, 1995; Eschiapati-Ferreira & Perez, 1997); *Caesalpinia ferrea*, *Cassia grandis* e *Samanea saman* (Lopes et al., 1998); *Bauhinia monandra* e *Bauhinia unguolata* (Alves, et al., 2000); *Mimosa caesalpiniaefolia* (Bruno et al., 2001); *Bowdichia virgilioides* (Sampaio et al., 2001); *Bowdichia virgilioides* (Smiderle & Souza, 2003); *Lotus subbiflorus* (Jacob Júnior et al., 2004).

A parede celular vegetal é delimitada por dois blocos de polissacarídeos com destaque para a celulose (Chambat et al., 1984). A presença de substâncias pécticas, em sua estrutura, torna-a metacromática quando é evidenciada *in situ*, por certos corantes básicos como o azul de toluidina a pH 4,0, por exemplo.

Durante o processo de germinação e alongamento celular podem ocorrer alterações na metacromasia (Cortelazzo, 1986; Randi, 1987). A capacidade que a semente tem de resistir à desidratação indica que suas membranas podem manter a integridade estrutural mesmo quando secas (Seewaldt et al., 1981).

Uma taxa excessiva de absorção de água antes de terminada a reorganização das membranas pode levar a um deslocamento dos componentes das mesmas, combinar deterioração de compostos e perda de componentes celulares através da saída no meio aquoso (Simon, 1978).

O tegumento normalmente restringe ou regula a entrada de água nas sementes, agindo como uma barreira mecânica à difusão (Válio, 1986). O fluxo de água para as sementes é controlado por um gradiente de cerca de 1000 bars (Larson, 1968; Manohar, 1986) e quando a água entra nos tecidos da semente provoca sérios danos às membranas celulares, podendo provocar rompimento parcial ou total destas membranas, determinando a liberação de solutos citoplasmáticos que pode chegar a 100% de perda (Larson, 1968).

Em sementes de *Mimosa* e *Araucaria angustifolia*, o tegumento apresenta alta impermeabilidade à água, impedindo a entrada da mesma e diminuindo a velocidade de germinação (Coutinho & Jurkevics, 1978; Ferreira & Handro, 1979).

Lagôa & Pereira (1989) sugerem que um dos efeitos do tegumento na germinação de *Ricinus communis* possa ser o de exercer uma barreira ao crescimento do embrião, já que a remoção de parte do tegumento na região oposta à carúncula (onde ocorre a protrusão da radícula) não promoveu a germinação.

### **Tratamentos pré-germinativos**

O fato que deve ser considerado na cultura do urucu é a dificuldade de germinação de suas sementes, a que se atribui ao fenômeno da dormência imposta pelo tegumento, causando a sua impermeabilidade à água, que geralmente é superada com escarificação. Esta escarificação pode ser feita utilizando-se tratamentos especiais com solventes orgânicos (álcool e acetona), ácidos fortes

(ácido sulfúrico concentrado), água quente (termoterapia), além do aquecimento a seco e esscarificação mecânica, onde se provoca um desgaste na testa das sementes (Bewley & Black, 1994; Amaral et al., 1995).

A ruptura do tegumento através dos métodos de esscarificação oferece vantagens com o aumento de: permeabilidade à água, sensibilidade à luz e à temperatura, permeabilidade aos gases, além da remoção de inibidores e promotores da germinação e possibilidade de injúria aos tecidos influenciando no metabolismo das sementes, e conseqüentemente, na dormência (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989).

Popinigis (1985) propõe alguns tratamentos como aumento da tensão de oxigênio, rompimento do tegumento, temperaturas alternadas, pré-friagem, exposição à luz e tratamento com  $\text{KNO}_3$ , para superar a dormência de sementes de algumas espécies.

Gazziero et al. (1991), estudando a superação da dormência de sementes de capim massambará (*Sorghum halepense* L.), concluíram que a imersão de sementes em nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ), não propicia um aumento no percentual de germinação das sementes e que a esscarificação em ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado, por períodos de 10 a 15 minutos, proporcionaram maior germinação e emergência das sementes dessa espécie. Em nível de laboratório, Mecelis et al. (1991) recomendam que a quebra de dormência de sementes de capim ramirez seja feita através da esscarificação com ácido sulfúrico, por 10 minutos, na presença de nitrato de potássio a 0,2%, em sementes recém-colhidas. Previero et al. (1996) encontraram resultados semelhantes para sementes de capim colômbio, e sugerem que tratamentos com  $\text{KNO}_3$  com luz e  $\text{KNO}_3$  sem luz combinado com a esscarificação ácida foram eficientes para quebra da dormência dessas sementes.

Harrington, citado por Huang & Hsiao (1987), verificou que a germinação do capim massambará aumentou com a remoção da pálea e da lema, e que o tratamento com ácido sulfúrico por dois e três minutos, induziu praticamente a germinação de todas as sementes em poucos dias.

A pesar da alta eficiência, tratamentos com ácido sulfúrico apresentam uma série de desvantagens como, por exemplo, o perigo de queimaduras ao técnico que executa a esscarificação, pelo seu alto poder corrosivo e por sua violenta reação com água, causando elevação na temperatura e respingos ao redor (Popinigis, 1985).

Jacob Júnior et al. (2004), testando tratamentos que visam a superação de dormência em sementes de cornichão anual, sugerem a escarificação mecânica por lixa, durante 30, 60 ou 90 segundos a 1.750 rpm, na superação da dormência das sementes dessa espécie.

### **Germinação *in vitro***

O urucuzeiro é uma espécie que apresenta baixa germinação de sementes devido à dormência imposta pelo tegumento (Mello & Eira, 1995). Assim sendo, é necessário o estudo de métodos de propagação dessa espécie. A propagação vegetativa vem sendo bastante estudada através da micropropagação (Ramamurthy et al., 1999; Sharon & D'Souza, 2000). Pinheiro et al. (2001), trabalhando com germinação *in vitro* de mangabeira, concluíram que a retirada do tegumento favorece a germinação das sementes dessa espécie.

Segundo Maciel et al. (2000), a propagação *in vitro* é uma técnica de cultura de tecidos bem sucedida e propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção, em curto espaço de tempo, e em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade vegetal.

Por causa de sua natureza juvenil com alto poder regenerativo, embriões são excelentes explantes para propagação clonal *in vitro* (Hu & Ferreira, 1998). Embriões cultivados *in vitro* permitem estudar as necessidades nutricionais e físicas para seu desenvolvimento, superar a dormência em certos tipos de sementes, testar a viabilidade das sementes, obter híbridos interespecíficos viáveis, além de aplicar técnicas de duplicação cromossômica (Pasqual & Pinto, 1988).

O crescimento e o desenvolvimento do embrião zigótico depende da espécie, podendo durar 35 dias em *Prunus* (Pedrotti et al., 1992) e 140 dias em macieira (Zhang & Lespinasse, 1991).

Os meios de cultura sólidos ou semi-sólidos são, na maioria das vezes, solidificados com ágar. A consistência desses meios depende de fatores como: a qualidade e concentração do ágar, que pode variar de 4 a 10 g L<sup>-1</sup> (Caldas et al., 1998); o pH; o tipo de explante, dentre outros, que podem interferir na gelificação do meio (Murashige, 1974; Caldas et al., 1998), não havendo uma formulação-padrão

no cultivo *in vitro*, sendo, entretanto, utilizado o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com sucesso para diversas espécies (Grattapaglia & Machado, 1998).

Almeida et al. (1995), trabalhando com micropropagação através de gemas originadas dos segmentos de folhas de urucueiro, obtiveram maior porcentagem de enraizamento (59,5%) em concentrações de 1 mg L<sup>-1</sup> de AIB.

Nogueira et al. (2004), trabalhando com germinação *in vitro* de murici-pequeno, concluíram que os meios de cultura mais eficientes para a germinação de sementes e embriões são o MS e WPM 50%, sem adição de sacarose.

Pasqual et al. (2002), estudando o cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira, obtiveram maiores valores de massa fresca em meios de cultivo na ausência de ágar ou em baixa concentração do mesmo, ocorrendo uma redução nessa característica à medida que se acrescenta o ágar ao meio. Com os valores de massa seca ocorreu o contrário, havendo redução na massa seca de brotações com o aumento da concentração de ágar ao meio de cultivo.

Silva et al. (2001), estudando cultura de embriões imaturos e organogênese da canela sassafrás conseguiram 85% de germinação de embriões imaturos, quando submetidos a 30 dias de refrigeração à 4°C e mantidos durante 100 dias em cultura, tendo sido verificada também a ocorrência de embriões dormentes logo após a colheita.

## REFERÊNCIAS

**AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.** Sementes Florestais Tropicais, **Brasília: ABRATES, 1993. 350p.**

AKAZAWA, T. Starch, inulin and other reserve polysaccharides. In: **Plant Biochemistry**, eds. Bonner & Varner, Academic Press, New York and London, p.25-29. 1965.

ALMEIDA, J.L.; ALMEIDA, F.C.G.; NUNES, R.P.; ALMEIDA, F.A.G. Indução de enraizamento na micropropagação do urucueiro. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v.21, p.129-135, 1955.

ALVES, M.C.S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E.M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguilata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.139-144, 2000.

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). **Acta Botânica**, v.15, n.1, p.125-132, 2001.

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.12, n.3, p.263-272, 2000.

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.7, n.2, p.151-157, dez. 1995.

ANDRADE, R.A.; MARTINS, A.B.G. Influence of the temperature in germination of jabuticaba tree. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Pelotas, v.25, n.1, p.197-198, abril, 2003.

ANGELUCCI, E. **As perspectivas para a agroindústria do urucu no Brasil.** [S.l.:s.n.], 1989. 3p. Mimeografado. Trabalho apresentado no Simpósio Brasileiro sobre urucu, 1. Fortaleza, 1989.



BANKS, W.; MUNIR, D.D. Structure and chemistry of the starch granule. Pp. 321-329. In: P.R. Stumpf; E.E.C. (Eds.). **The biochemistry of plants**. Academic Press, London. 1980.

BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W.; BARBEDO, C.J.; NACAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.14-18, 1994.

BARBOSA, J.M.; BARBOSA, L.M. Avaliação dos substratos, temperaturas de germinação e potencial de armazenamento de sementes de três frutíferas silvestres. **Ecossistema**, v.10, p.152-160, 1985.

BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**, v.1. São Paulo: USP. 1978. 255p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York and London: Plenum Press, 1994. 445p.

BORISJUK, L.; WEBER, H.; PANITZ, R.; MANTEUFFEL, R.; WOBUS, U. Embryogenesis of *Vicia faba* L.: histodifferentiation in relation to starch and storage protein synthesis. **Journal of Plant Physiology**, v.174, p.203-218. 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BROWN, R. Germination. In: **Plant Physiology: a treatise**. Ed. F.C. Steward, v.3, Academic Press, 1972.

BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U.; OLIVEIRA, A.P.; PAULA, R.C. . Tratamentos pré-germinativos para superar a dormência de sementes de *Mimosa caesalpineaeifolia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília. v.23, n.2, p.136-143.2001.

BUCKERIDGE, M.S.; REID, J.S.G. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v.48, n.3, p.153-162. 1996.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A (ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA; CBAB, 1998. p.87-132.

CÂNOVA, R. **Urucum**. Disponível em: <<http://alemdojardim.terra.com.br/alem>> Acesso em: 22 mai. 2000.

CARAN, M. Ervas se apresentam: urucum – *Bixa orellana*. **Boletim Agroecológico**. Ano 1, n.4, 15p, out. 1997.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

- CAVALIERI, I. Culturas. **Manchete Rural**, Rio de Janeiro, n.55, p.81-82, out. 1991.
- CHAMBAT, G.; BARNOUD, F.; JOSELEAU, J.P. Structure of the primary cell walls of suspension cultured *Rosa glauca* cells I. Polysaccharides associates with cellulose. **Plant Physiology**, v.74, p.687-693, 1984.
- CHING, T.M. Metabolism of germination seeds. In: KOZLOWISKI, T.T. (ed). **Seed Biology**. v.1, Academic Press, 1972. p.103-218.
- CÍCERO, S.M. **Dormência de sementes**. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES. Piracicaba: FEALQ, p.41-74. 1986.
- CÔME, D.; TISSAQUI, T. Interrelated effects of imbibition, temperature and oxygen on seed germination. In: HEYDECKER, W. **Seed ecology**. Miyagi-ken: The Pennsylvania State University Press, University Park, 1973. p.157-168.
- CORREA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1978. 777p.
- CORTELAZZO, A.L. **Proteínas cotiledonares de soja: detecção *in situ* e mobilização durante a germinação**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.
- COUTINHO, L.M.; JURKEVICS, I.R. Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. V. – Efeito de altas temperaturas na germinação de uma espécie de *Mimosa*. **Ciência e Cultura**. 30 (Supl.): 420. 1978.
- CROOKSTON, R.K.; HILL, D.S. A visual indicator of the physiological maturity of soybean seed. **Crop Science**, Madison, v.18, n.5, p.867-870. 1978.
- DELOUCHE, J.C. Seed maturation. In: **Handbook of seed technology**. Mississipi: Mississipi State University, 1981, p.17-23.
- DUNN, G. A model for starch breakdown in higher plants. **Phytochemistry**, v.13, p.1341-1349. 1974.
- EDWARDS, D.G.W. Maturity and quality of tree seeds. **Seed Science and Technology**, v.8, p.625-657. 1980.
- ESCHIAPATI-FERREIRA, M.S.; PEREZ, S.C.J.G.A. Tratamentos para superar a dormência de sementes de *Senna macranthera*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.2, p. 231-237. 1997.
- FERNANDEZ, H.G. Influencia de la edad en la germinación en *Atriplex repanda*. **Phyton**, v.36, n.2, p.111-115, 1978.
- FERREIRA, A.G.; HANDRO, W. Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.2. p.7-13. 1979.
- FERRI, M. G. Fisiologia Vegetal. **2. ed. v.1. São Paulo: EPU, 1985.**

FIGLIOLA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLA, M.B. (eds.). **Sementes Florestais Tropicais**. Brasília: ABRATES, p.137-174. 1993.

FRANCO, C.O.F.; SILVA, F.C.P.; CAZÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; FONTINÉLLI, I.S.C. **Manejo da cultura do urucum (*Bixa orellana* L.)**. EMEPA. Paraíba. 2002.

GHERSA, C.; SORIANO, A.; SANCHEZ, R.; VALLA, L.G. Estrategias de invasión y perpetuación del sorgo de alepo. **Revista CREA**, v.74, 1979.

GOMES, S. M. S.; BRUNO, R. L. A. Influência da temperatura e substratos na germinação de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.1, p.47-50, 1992.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p.183-260.

GRAZZIERO, D.L.P.; KZRYZANOWSKI, F.C.; ULBRICH, A.V.; VOLL, E.; PITELLI, R.A. Estudo da superação de dormência de sementes de capim massambará (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) através de nitrato de potássio e ácido sulfúrico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.1, p.21-24, 1991.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, F.T. **Plant propagation: principles and practices**. 5.ed., New Jersey: Prentice – Hall International, 1990. 647p.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, v.1. 1998. 509p.

HUANG, W.Z.; HSIAO, A.I. factors affecting seed dormancy and germination of Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) **Weed Research**, v.27, p.1-12, 1987.

IKUTA, A.R.Y.; BARROS, I.B.I. Influência da temperatura e da luz sobre a germinação de marcela (*Achyrocline satureioides*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.12, p.859-862, dez. 1996.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K.F.L.; BARBOSA, J.C. Efeitos de substratos e temperaturas na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.2, p.36-69, 2003.

JACOB JÚNIOR, E.A.; MENEGHELLO, G.E.; MELO, P.T.B.S.; MAIA, M.S. Tratamentos para superação de dormência em sementes de cornichão anual. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.2, p.15-19, 2004.

KATO, O.R.; FIGUEIRÊDO, F.J.C.; BELFORT, A.J.; NOGUEIRA, O.L.; BARBOSA, W.C. Época de colheita de sementes de urucu: emergência e teor de corantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.9, p.1291-1302, 1992.

KERMODE, A.R.; BEWLEY, J.D. DASGUPTA, J.L.; MISRA, S. The transition from seed development to germination: a key role for desiccation? **Hort Science**, v.21, p.1113-1118, 1986.

KISS, J. Urucum: fontes de cor. **Globo Rural**, Rio de Janeiro, v.13, n.151, p.31-34, maio. 1998.

KRAMER, P.J.; KOZLOZWISKI, T.T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745p.

KREIS, M.; DOLL, H. Starch and prolamin level in single and double high lysine barley mutants. **Physiologia Plantarum**, v.48, p.139-143. 1980.

LAGÔA, A.M.M.A.; PEREIRA, M.F.D.A. Envolvimento do tegumento no controle da germinação de sementes de *Ricinus communis* L. **Revista de Biologia**, Campinas, v.14. p.213-220. 1989.

LARSON, L.A. The effect soaking pea seeds with or without seed coats has on seedling growth. **Plant Physiology**, v.43, p.255-259, 1968.

LEGUIZAMÓN, E.S. Seed survival and patterns of seedling emergence in *Sorghum halepense* (L.) Pers. **Weed Research**, v.26, p.397-403. 1986.

LEONHARDT, C.; TILLMANN, M.A.A.; VILLELA, F.A. & MATTEI, V.L. Maturação fisiológica de sementes de tarumã-de espinho (*Citharexylum montevidense* (Spreng.) Moldenke – Verbenaceae), no jardim botânico de Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, p.100-107. 2001.

**LIMA, L.C.F. Conceitos conjunturais sistematizados da botânica do urucuzeiro. In: SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H. A cultura do urucu no Brasil. Vitória da Conquista: UESB, 1990. p.25-28.**

LOPES, J.C. **Germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris***. 1990. 223 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

LOPES, J.C.; CAPUCHO, M.T.; KROHLING, B. ZANOTTI, P. Germinação de sementes de espécies florestais de *Caesalpineia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachya* Benth., *Cassia grandis* L. e *Samanea saman* Merrill, após tratamentos para superar a dormência. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.80-86, 1998.

LOPES, J.C.; CAVATE, P.C.; ZONTA, J.B. Efeito da luz e da adubação com NPK em dois tipos de solos na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de cenoura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44, 2004, Campo Grande. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Olericultura, 2004a. v.22, n.2.

LOPES, J.C.; FERNANDES, M.; DIAS, R.S.; NAZARÉ, L. Influência de diferentes substratos e lâminas de água na germinação e vigor de sementes de feijão-de-vagem cv. Manteiga Teresópolis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

OLERICULTURA, 44, 2004, Campo Grande. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Olericultura, 2004b. v.22, n.2.

LOPES, J.C.; PEREIRA, M.D.; MARTINS FILHO, S. Germinação de sementes de calabura (*Muntingia calabura* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.24, n.1; p.59-66, 2002.

LOPES, J.C.; SOARES, A.S. Germinação de sementes de *Miconia cinnamomifolia* (Dc.) Naud. **Brasil Florestal**, Brasília, v.21, n.75, p.31-38, 2003.

LOPES, J.C.; SOUZA, C.M.P. Efeito de diferentes substratos e luz na germinação de bucha dos paulistas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43, 2003, Recife. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Olericultura, 2003. v.21, n.2.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, v.1. 1998. 368p.

MACIEL, A.L.R.; SILVA, A.B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.9-12, jan/mar., 2000.

MANOHAR, M.S. Effects of osmotic systems on germination of peas (*Pisum sativum* L.). **Planta**, v.71, p.81-86, 1986.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon Press, 1989. 270p.

MECELIS, N.R.; SCHAMMASS, E.A.; DIAS, L.M.G.S. Efeitos da escarificação, nitrato de potássio e adubação nitrogenada sobre germinação de sementes recém-colhidas de armazenadas de capim-ramirez. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.1, p.31-36. 1991.

MELLO, C.M.C.; EIRA, M.T.S. Conservação de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 9, Florianópolis, 14-18 ago. 1995. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.5, n.2, p.183, 1995. (Resumo, 319).

MENEZES, N.L.; MAZARO, S.M.; BRACKMANN, A. Efeito da exposição a diferentes concentrações de oxigênio para superar a dormência em sementes de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9,n.2, p.375-379, 1997.

MERCADANTE, A.Z.; STECH, A.; PFANDER, H. Isolation and identification of new apocarotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.45, n.4, p.1050-1054, 1997b.

MERCADANTE, A.Z.; STECH, A.; PFANDER, H. Isolation and structure elucidation of minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) seeds. **Phytochemistry**, Oxford, v.46, n.8, p.1379-1383, 1997a.

MERCIER, C. Biosynthesis and accumulation of polysaccharides in seeds and tubers. **Physiology Vegetal**, v.23, p.231-242, 1985.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, v.25, p.135-166, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.

MURRAY, D.R. Accumulation of seed reserves of nitrogen. In: Murray, D.R. ed. **Seed Physiology**. I. Development. Academic Press, Sydney, p.83-127. 1984.

NAKAGAWA, J. Produção de sementes. In: SEMENTES: CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO POR TUTORIA A DISTÂNCIA. Brasília, 21 jan./08 março 1987. **Palestra**. Brasília: ABEAS, 1987. 40p. (Módulo, 2).

NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, R.; CASTRO, A.H.; VIEIRA, C.V.; ABBADE, L.C.; ALVARENGA, A.A. Germinação in vitro de murici-pequeno (*Byrsonima intermédia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.5, p.1053-1059, set.out., 2004.

PASQUAL, M.; FINOTTI, D.R.; DUTRA, L.F.; CHAGAS, E.A; RIBEIRO, L.O. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira “Poncã” em função do pH e da concentração de ágar. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.8, n.3, p.199-202, set-dez, 2002.

PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de embriões**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 13p.

PEDROTTI, E.L.; LELU, M.A.; BILLOT, I.; CORNU, D. 1992. Morphogenetic response on wild cherry (*Prunus avium* L.) immature embryos. In: Mass production technology for improved fast growing forest tree species. In: **Proceedings of Symposium Bordeaux**, Bordeaux, p.67-72.

PEREIRA, M.I.; ZANON, A.; SCHEFFER, M.C. Germinação de sementes de guaco – *Mimosa glomerata* Spreng. (Asteraceae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p.104. 1995.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, J.D. Teste de germinação. In: Piña-Rodrigues, F.C.M. (ed). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.70-90.

PINHEIRO, C.S.R.; MEDEIROS, D.N.; MACÊDO, C.E.C.; ALLOUFA, M.A.I. Germinação in vitro de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gómez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Pelotas, v.23, n.2, p.413-416, agosto 2001.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: ABRATES, 1985. 298p.

PREVIERO, C.A.; MARTINS, L.; FONSECA, R.H.A.; GROTH, D. Efeito dos tratamentos para superação da dormência em sementes de capim colônio (*Panicum maximum* Jacq.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.143-148, 1996.

RAMALHO, R.S.; PINHEIRO, A.L.; DINIZ, G.S. Urucum: planta rústica e de alto rendimento. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, p.24-31, jun./ago. 1988.

RAMAMURTHY, N.; SAVITHRAMMA, N.; USHA, R.; SWAMY, P.M. Multiple shoot induction and regeneration of japhara (*Bixa orellana* L.) through axillary bud derived callus cultures. **Journal of Plant Biology**, Seul, v.26, n.3, p. 231-235, 1999.

RANDI, A.M. **Aspectos fotomorfogênicos, bioquímicos e citoquímicos durante a germinação de esporos de *Cyathea delgadil* Sternb.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1987.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science & Technology**, n.1, p.499-514. 1973.

ROBERTS, E.H. Loss of viability and crop yields. In: **Viability of seeds**. New York. Syracuse University, 1972. 448p.

ROLSTON, M.P. Water impermeable seed dormancy. **Botanical Review**, v.44, n.3, p.365-396, 1978.

SAMPAIO, L.S.V.; PEIXOTO, C.P.; PEIXOTO, M.F.S.P.; COSTA, J.A.; GARRIDO, M.S.; MENDES, L.N. Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K. – Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.184-190, 2001.

SANTAREM, E.R.; AQUILA, M.E.A. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Collad.) Irwin & Barn. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.205-209, 1995.

SANTOS, S.R.G.; AGUIAR, I.B. Germinação de sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs) em função do substrato e do regime de temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.120-126, 2000.

SANTOS, V.L.M.; SILVA, R.F.; CARDOSO, A.A.; SEDIYAMA, T. Avaliação da produtividade e da qualidade das sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), colhidas na maturação fisiológica e trinta dias após o ponto de colheita. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.50-66, 1996.

SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H. Propagação de urucueiros e plantio. In: SÃO JOSÉ, A.R. **A cultura do urucum no Brasil**. Vitória da Conquista: UESB, 1990, p.32-38.

SEDIYAMA, M.A.N.; CASALI, V.W.D.; SILVA, E.A.M.; CARDOSO, A.A.; SILVA, R.F. Influência da época de colheita e estágio de maturação na germinação de sementes de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* BANC). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.1, p.69-71, 1991.

SEEWALDT, V.; PRIESTLEY, D.A.; LEOPOLD, A.C. FEIGENSON, G.M.; GOODSID-ZALDUONDO, F. Membrane organization in soybean seeds during hydration. **Planta**, v.152, p.19-23, 1981.

SHANNON, J.; GREECH, R.G.; LOERCH, J.D. Starch synthesis studies in *Zea mays*. III – Molecular distribution of radioactivity in starch. **Plant Physiology**, v.45, p.163-168. 1970.

SHARON, M.; D'SOUZA, M.C. In vitro clonal propagation of annatto (*Bixa orellana* L.). **Current Science**, Bangalore, v.78, n.12, p.1532-1535, 2000.

SILVA, J.M.O.D.; OLTRAMARI, A.C.; MARASCHIN, M.; PEDROTTI, E.L. Cultura de embriões imaturos e organogênese: aspectos biotecnológicos da canela sassafrás. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.20. mai/jun. 2001.

SILVA, L.M.M; MATOS, V.P. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de coaçu (*Triplaris surinamensis* Cham.) **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v,2, n.1, p. 94-96, jan-abr, 1998.

SILVEIRA, F.A.O.; NEGREIROS, D., FERNANDES, G.W. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marctia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae). **Acta Botânica Brasileira**, Brasília, v.18, n.4, p.847-851, 2004.

SIMON, E.W. **Membranes in dry and imbibing seeds**. In: CROWE, J.H.; CLEEG, J.S., (ed.) *Dry Biological Systems*. Academic Press, New York, 1978. p. 77-115.

SINGH, R.; JULIANO, B.O. Free sugars in relation to starch accumulation in developing rice grain. **Plant Physiology**, v.59, p.417-421. 1977.

SMIDERLE, O.J.; SOUZA, R.C.P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth – Fabaceae – Papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.2, p.48-52, 2003.

SMITH, C.J. Seed dormancy in sabi panicum. **Proc. Int. Seed Test. Assoc.**, v.36, n.1, p.81-96, 1971.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

THAKER, V. Changes in water content, sugars and invertase activity in developing seeds of *Hibiscus esculentum*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.21, p.155-159, 1999.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. Manual das sementes: **tecnologia da produção**. São Paulo, Ed. Agronomia Ceres, 1977. 224p.

URUCUM. Disponível em: < <http://www.amazônialegal.com.br/textos.htm>>  
Acesso em: 15 abr. 2005.

**VÁLIO, I.F.M.** The role of seed coat in early stages of soybean germination. *Biologia Plantarum*, v.28, n.4, p.258-264, 1986.

VARNER, J.E.; SCHIDLOVSKY, G. Intracellular distribution of proteins in pea cotyledons. *Plant Physiology*, v.38, p.139-144, 1963.

VILLAGOMEZ, A.Y.; VILLASENOR, R.R.; SALINAS, M.J.R. **Lineamento para el funcionamiento de um laboratório de semillas**. México: INIA, 1979. 91p.

VILLIERS, T.A. Seed moisture and storage. *Seed Science & Technology*, n.6, p.993-996, 1978.

WHITEMAN, P.C.; MENDRA, K. Effects of storage and seed treatments on germination of *Brachiaria decumbens*. *Seed Science & Technology*, v.10, n.2, p.233-242, 1982.

WILLIAMS, R.C.; WEBB, B.C. Seed moisture relationships and germination behavior of acid-scarified bahiagrass seed. *Agronomy Journal*, v.50, p.235-237, 1959.

ZHANG, Y.X.; LESPINASSE, Y. Removal of embryonic dormancy in apple (*Malus domestica* Borkh) by 6-benzylaminopurine. *Scientia Horticulturae*, v.46, p.215-223, 1991.

## Capítulo 1

### **Caracterização histológica do tegumento de sementes de urucu e variações no teor de bixina durante a maturação fisiológica**

RESUMO – O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar histologicamente o tegumento de sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde em diferentes estádios de maturação, relacionando as mudanças estruturais com a dormência das sementes, e quantificar o teor de bixina com a evolução da maturação fisiológica. Cada inflorescência foi identificada durante a antese e os respectivos frutos colhidos semanalmente para avaliações de: diâmetro, comprimento, coloração, teor de água, massa fresca e seca dos frutos e das sementes, massa de mil sementes, vigor e porcentagem de germinação das sementes, estrutura do tegumento, extração e dosagem de bixina. As determinações foram conduzidas com quatro subamostras de 20 frutos e 50 sementes por colheita, no delineamento inteiramente casualizado. O máximo da maturação fisiológica das sementes ocorre aos 77 dias após a antese. O teor de água e o peso de massa seca foram os índices que melhor caracterizaram a maturação fisiológica e na definição da época de colheita das sementes. O tamanho dos frutos e a coloração das sementes também se revelaram como bons indicadores do ponto de maturação fisiológica. Os índices que melhor caracterizaram a maturação fisiológica e morfológica (germinação, vigor e teor do corante) atingiram maiores valores aos 77 dias após antese. Sementes de *Bixa orellana* apresentam dormência após a maturação fisiológica. Os macroesclereídeos apresentam-se bastante lignificados, com alta metacromasia evidenciada *in situ*, pelo azul de toluidina, após 84 dias da antese, ocorrendo deiscência dos frutos.

Termos para indexação: *Bixa orellana*, maturação, bixina, dormência.

**Histological characterization of coat annatto seeds and variations of the bixina drift during the physiological maturity**

ABSTRACT - This work was carried out with the objective to study the maturation process of *Bixa orellana* seeds. Each inflorescence was identified considering the day of their respective anthesis. Weekly samples of fruits were obtained. For each fruit it was determined diameter, weight, color, moisture content, and dry weight. After, seeds were extracted and it was determined color, moisture content, dry weight, weight of one thousand seeds, speed germination, percentage of germination and extraction of bixin. The experimental design was randomized complete block with four replications. According to statistical analyses, it was possible to determine the following conclusions: (i) the physiologic maturity point of the seeds occurred 77 days after the anthesis; (ii) moisture content and dry weight were the best parameters for describing seed physiologic maturity and time for harvesting; (iii) better germination percentage and better bixin content were certified for seeds extracted 77 days after the anthesis; (iv) the vigor of the seeds increased until the 77 days after anthesis; (v) size and color of fruits and seeds showed as efficient maturation parameters; (vi) *Bixa orellana* seeds present dormancy after the a physiological maturity; (vii) the tissues present high impermeability and initial fruit dehiscence occurred after 77 days after anthesis.

Index terms: *Bixa orellana*, maturation, bixina, dormancy

## Introdução

*Bixa orellana* L. (Bixaceae) é uma espécie arbustiva cultivada nos trópicos de todo mundo, popularmente conhecida como urucuzeiro. Seus frutos constituem-se por cápsulas ovóides e cada uma delas contém de 30 a 40 sementes que, quando amadurecem, a polpa à sua volta vai endurecendo, tornando-se sólida (Ramalho et al., 1988; Lorenzi, 1998; Cânova, 2000).

A bixina, principal corante desta espécie, pertence à classe dos carotenóides e está presente nas sementes entre 70 e 80%, utilizado para colorir alimentos gordurosos, sendo o restante um pigmento de cor amarela, com pequenas quantidades de substâncias, cujas estruturas estão relacionadas com a bixina, incluindo a norbixina, que é solúvel em água e se presta à coloração de produtos não-oleosos. A norbixina, depois de acidificada, torna-se um corante lipossolúvel (Angelucci, 1989).

A propagação da espécie é feita geralmente por sementes, que por ser o método mais fácil e econômico do que a propagação vegetativa e a micropropagação (Pereira et al., 1995), pode ser feita através da semeadura direta, em sementeiras ou em sacos plásticos, devendo as cachopas ser colhidas em seu estágio de maturação mais adequado e as sementes secas à sombra para que apresentem alto poder germinativo (Ramalho et al., 1988).

Na fase de maturação, desde a fertilização do óvulo, algumas mudanças se tornam mais marcantes, com destaque para as transformações no tamanho, no teor de água, na massa fresca e seca, na capacidade germinativa e no vigor, dentre outras alterações visíveis no aspecto externo de frutos e sementes como; a forma, a cor, a senescência e a paralisação da translocação de substâncias de reservas da planta para a semente (Delouche, 1981; Popinigis, 1985; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989; Carvalho & Nakagawa, 2000). Entretanto, em sementes de urucu, além de alterações na qualidade fisiológica, podem ocorrer também modificações nos teores de corantes, e segundo Kato et al. (1992), a colheita deve ser realizada entre 72 e 79 dias após a abertura da primeira flor da inflorescência.

Quando uma semente viável é mantida sob condições favoráveis à sua germinação e ela não consegue germinar, diz-se que ela se encontra em estado de dormência (Popinigis, 1985), que pode ser dividida em duas categorias: extra

embrionária na qual as estruturas que envolvem o embrião como o tegumento, pericarpo, endosperma e remanescentes de órgãos florais exerçam alguma resistência física que o embrião não consegue superar e a embrionária, devido à presença de inibidores da germinação (Bewley & Black, 1994). Os fatores que determinam este fenômeno são: o embrião imaturo ou rudimentar, a impermeabilidade ao oxigênio, a impermeabilidade à água, as restrições mecânicas, o embrião dormente e a presença de substâncias inibidoras (Delvin, 1966).

Sementes de *Caesalpineia ferrea*, *Cassia grandis* e *Samanea saman* (Lopes et al., 1998); *Cassia excelsa* (Jeller & Perez, 1999); *Mimosa caesalpiniaefolia* (Bruno et al., 2001), apresentam tegumento com alta impermeabilidade à água. Nessas sementes, o tegumento impede a entrada de água, reduzindo a velocidade de germinação.

**Este trabalho teve por objetivo determinar o ponto de maturação fisiológica das sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde, caracterizando *in situ* a histologia do tegumento das sementes e quantificando o teor de bixina das mesmas.**

## Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em propriedade particular localizada no município de Alegre-ES, situado a 20°45'48'' de latitude Sul e 41°31'57'' de longitude Oeste de Greenwich, numa altitude de 250 metros. O clima predominante é quente e úmido no verão, com inverno seco e apresenta uma precipitação anual média de 1200 mm. A temperatura média anual é em torno de 23°C (Espírito Santo, 1994), no Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), no Laboratório de Pigmentos e Secagem do Departamento de Tecnologia de Alimentos e no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, ambos da Universidade Federal de Viçosa, no período de março a junho de 2004.

Para o estudo da maturação fisiológica das sementes, as flores foram etiquetadas na antese e as coletas de frutos realizadas semanalmente.

A partir das flores etiquetadas, os frutos formados foram coletados e conduzidos ao Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes, onde foram imediatamente avaliados, extraídas as sementes manualmente e feitas as seguintes determinações: **diâmetro, comprimento, peso e coloração dos frutos** – utilizando-se para isso paquímetro e balança

eletrônica; **teor de água (%)** e **massa seca dos frutos (g)** – determinados pelo método de estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992); **coloração das sementes** – determinada visualmente, no momento em que as sementes eram extraídas dos frutos; **teor de água (%)** e **massa seca das sementes (g)** – obtidos pelo método de estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, conforme Brasil (1992), com duas subamostras de 50 sementes, pesadas em balança eletrônica; **germinação** – realizada com quatro subamostras de 50 sementes semeadas em papel Germitest<sup>®</sup>, umedecido com água destilada, equivalente a 2,5 vezes o seu peso do substrato seco. Depois de colocadas as sementes, o papel foi enrolado e os rolos foram colocados em germinador a  $30^{\circ}\text{C}$ . As avaliações foram realizadas diariamente, após a instalação do teste e computadas as porcentagens de plântulas normais, anormais, sementes dormentes e sementes mortas (Brasil, 1992); **índice de velocidade de germinação** – determinado mediante a contagem diária do número de sementes germinadas, isto é, aquelas que apresentavam protrusão de raiz principal maior ou igual a dois milímetros de comprimento e o cálculo efetuado de acordo com Maguire (1962); **quantificação do teor de corante** – o corante foi extraído das sementes de urucu em diferentes estádios de maturação conforme Stringheta et al. (1999). Neste trabalho foi utilizado o método KOH, pelo qual, a norbixina é extraída da polpa das sementes de urucu e através da ebulição é convertida em bixina. Após a extração do pigmento, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro e em seguida os resultados foram convertidos em porcentagem de bixina, através do seguinte fator de correção:  $\text{DO} \times 6,97 = \% \text{ Bixina}$ . A Densidade Óptica (DO) é determinada com a leitura das amostras em 480 nm; **obtenção do laminário histológico** – foram utilizadas sementes a partir do terceiro estágio de maturação, retiradas de cinco frutos que se apresentavam no mesmo estágio de maturação e armazenadas em cápsulas de alumínio mantidas em freezer, visando interromper as atividades celulares. Para estudos anatômicos, as sementes foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (50 ml de formaldeído, 50 ml de ácido acético glacial, 900 ml de etanol 50%) por 24 horas, mantidas em dessecador sob vácuo (Johansen, 1940). Depois de fixadas as amostras foram estocadas em etanol 70%. Para a obtenção dos cortes, as sementes foram incluídas em metacrilato (Historesin Leica). As amostras foram desidratadas em série etílica e até o emblocamento, os frascos foram mantidos em dessecador sob vácuo. Os blocos foram submetidos ao micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM 2155), para obtenção de cortes longitudinais de 6 micrômetros de espessura, sendo distendidos em recipiente contendo água destilada, dispostos em lâminas histológicas e corados com azul de toluidina em pH ácido por 13 minutos à temperatura

ambiente para detecção de radicais aniônicos e metacromasia (O'Brien & McCully, 1981). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permount). A análise e a documentação fotográfica foram efetuadas em um microscópio (Olympus AX70) equipado com sistema fotográfico (U-PHOTO).

O delineamento experimental utilizado em todas as avaliações foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 frutos e 50 sementes. Os dados de maturação fisiológica foram analisados através do modelo de regressão polinomial, estabelecendo-se como nível de significância dos testes ( $P < 0,05$ ). A porcentagem de germinação, o teor de bixina e o índice de velocidade de germinação foram evidenciados através de histogramas.

## Resultados e Discussão

**Neste trabalho, a época de florescimento, correspondendo ao período decorrido do início à completa formação dos botões florais, teve início na segunda quinzena de março, estendendo-se até início de junho. Somente 14 dias após a antese houve a formação de frutos.**

**Na Tabela 1, são apresentadas as características físicas e morfológicas dos frutos e das sementes de *Bixa orellana* para as diferentes épocas de colheita. Considerando os frutos colhidos após 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias após a antese, verificou-se o efeito da idade dos frutos sobre o comprimento e diâmetro, tendo atingido maior dimensão após 49 dias da antese, mantendo-se praticamente inalteradas essas características após esse período.**

**Com relação à coloração, verificou-se que os frutos colhidos até os 70 dias após a antese, apresentaram uma coloração verde. Deste estágio até aos 84 dias, as tonalidades foram se alterando, tomando tons um pouco mais escuros, passando à coloração verde-amarronzada, que foi se tornando mais escuro (marrom-escuro) e com aspecto mais seco até os 77 dias, concordando com Franco et al. (2001). Aos 84 dias, verificou-se o início de deiscência através de uma abertura, por onde são liberadas as sementes, embora ainda houvesse frutos fechados (Figura 1).**

**De maneira análoga, as sementes apresentaram um contínuo processo de mudanças em sua coloração, passando de tons de pêssego aos 14 dias após a antese, para coloração rosa após 21 dias, adquirindo a coloração vermelha aos 28 dias após a antese,**

permanecendo com essa coloração até 77 dias após a antese, adquirindo a coloração preta aos 84 dias.

A utilização de características como coloração de frutos e sementes para determinar o ponto de maturação fisiológica das sementes de urucu demonstrou bastante eficiente, pois estas características são relativamente fáceis de serem correlacionadas com a maturidade fisiológica, concordando com as observações feitas em calêndula por Silveira et al. (2002).

As variáveis: teor de água e massa seca das sementes; e, teor de água e massa seca, massa fresca e diâmetro dos frutos, ajustaram-se à regressão de modelo polinomial (Figura 2).

A massa seca das sementes teve comportamento inversamente proporcional ao teor de água das mesmas (Figura 2A e 2B). As sementes extraídas de frutos colhidos aos 14 dias após antese, portanto em fase de crescimento, apresentaram teor médio de água de 83,39%. Teor que oscilou de 85,1 e 81,2% de água nas avaliações efetuadas no período compreendido entre 21 e 42 dias após a antese, conforme caracterizado pela curva obtida a partir da equação de regressão ( $R^2 = 0,86$ ).

Martins & Silva (1997), estudando a maturação de sementes de *Dalbergia nigra*, verificaram alto teor de umidade inicial nas sementes das primeiras coletas e comentam que o posterior decréscimo desta umidade está relacionado com a importância da água nos processos de enchimento e maturação das sementes. Para que os produtos fotossintetizados nas folhas atinjam as sementes em formação e sirvam como material de construção e de reserva, é preciso que as sementes estejam com elevado grau de umidade, que ocorre até que o peso de massa seca atinja o valor máximo, iniciando então uma rápida desidratação (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A massa seca das sementes atingiu valor máximo ( $1,26 \text{ mg semente}^{-1}$ ) com 77 dias após a antese ( $R^2 = 0,85$ ), enquanto a umidade, nessa mesma época, atingiu valores de 34,35% ( $R^2 = 0,86$ ).

Com relação ao teor de água dos frutos (Figura 2C), este permaneceu mais ou menos constante até a nona coleta, que se deu aos 70 dias após a antese (74, 69%), reduzindo progressivamente a partir deste ponto. Aos 77 dias após a antese, os frutos sofreram uma queda acentuada no teor de umidade (33, 8%), cujo valor continuou decaindo até os 84 dias após a antese (décima primeira coleta), onde os frutos já apresentavam um teor de água de 13,73%, conforme mostra a curva de regressão ( $R^2 = 0,84$ ) e coloração marrom-escura, opaca,

com início de deiscência, e, as sementes de coloração vermelha muito intensa, iniciando um processo de oxidação, passando à coloração preta, quando se desprendiam com maior facilidade dos lóculos das cachopas.

A massa seca dos frutos (Figura 2D) apresentou valor de 0,04 g fruto<sup>-1</sup> aos 14 dias após a antese, atingindo 0,89 g fruto<sup>-1</sup> após 84 dias ( $R^2 = 0,90$ ). Nesse período os frutos apresentavam uma coloração marrom-escuro. A massa fresca dos frutos (Figura 2E) aumentou até os 35 dias após antese, permanecendo mais ou menos constante até os 70 dias, sofrendo uma queda acentuada a partir desse ponto ( $R^2 = 0,81$ ). O diâmetro dos frutos (Figura 2F) apresentou crescimento progressivo até 28 dias após a antese, permanecendo inalterado após esse período, enquanto a massa dos frutos aumentou até 56 dias, reduzindo-se a partir de 70 dias, atingindo valores de 1,03 g após 84 dias.

**O número de sementes por fruto (Figura 2G) não apresentou alteração significativa durante a fase de maturação, sugerindo que o número de sementes formado no fruto esteja mais relacionado com a taxa de polinização e fertilização do que com a idade do fruto. O número médio de sementes por fruto é de 42, sendo que o fruto com menor peso (0,17 g) possuía 42 sementes e o de maior peso (4,87 g) possuía 44 sementes.**

A ausência de germinação pelas sementes extraídas dos frutos colhidos dos 14 aos 49 dias, indica imaturidade fisiológica das mesmas. O início de germinação (protrusão da raiz principal da primeira semente), somente se verificou aos 56 dias após antese (Figura 3A) sem, contudo, originar uma plântula normal, de acordo com Brasil (1992). Maior porcentagem de germinação foi obtida após 77 dias da antese (22,5%), sendo nesta data, também, verificado o maior vigor (Figura 3B).

Martins & Silva (1997) não obtiveram germinação das sementes de *Dalbergia nigra* nas três primeiras colheitas, podendo tal fato estar relacionado com a possível imaturidade fisiológica das sementes. A germinação iniciou-se a partir da quarta colheita, aumentando gradativamente até atingir 88% na última colheita, discordando de Sedyama et al. (1991), que obtiveram maiores porcentagens de germinação em sementes de mandioquinha-salsa oriundas das primeiras colheitas, e sugeriram que essa maior porcentagem de germinação pode ser atribuída ao maior fluxo de nutrientes durante a formação das sementes, uma vez que as mesmas apresentaram maior peso, e o prolongamento da colheita acarretou perda considerável na capacidade germinativa das sementes.

Na Figura 4 pode-se observar as variações ocorridas no teor (%) e na produção de bixina (kg ha<sup>-1</sup>). Nos primeiros estádios de maturação (35, 42, 49 e 56 dias após a antese) o

teor do pigmento permaneceu mais ou menos constante (0,64%, 0,65%, 0,68%, 0,68% respectivamente), possivelmente pelo fato das sementes não terem acumulado quantidade substancial do pigmento, conforme pode ser visto nas Figuras 5A, 5B e 5C. Estes resultados discordam daqueles obtidos por Kato et al (1992), que estudando a época de colheita de sementes de urucu, verificaram que somente dos 30 aos 51 dias após a abertura da primeira flor da inflorescência, as sementes apresentavam teores aceitáveis de bixina. Se as sementes demoram a ser colhidas, sofrem um processo de oxidação, adquirindo a coloração preta (Cavaliere, 1991).

**A Figura 5A mostra no início da formação da semente, após 21 dias, que as estruturas celulares que formam o tegumento externo (testa) e o tegumento interno (tégma) estão bem diferenciados, mas não completamente formados. Na testa existem os canais secretores, onde, em estádios mais avançados, vai haver a formação do pigmento bixina.**

**Após 35 dias da antese (Figura 5B) é possível observar a diferenciação dos idioblastos e da camada de células que ocorre abaixo destes. Os macrosclereídeos já aparecem bem lignificados, apresentando uma espessa camada de coloração azulada evidenciado *in situ*, devido à estrutura metacromática em presença do azul de toluidina a pH 4. Durante o processo de germinação essas alterações na metacromasia ficam mais evidenciadas (Cortelazzo, 1986; Randi, 1987; Lopes, 1990).**

**Em estádios mais avançados de maturação, como aos 56 dias após antese, é possível observar um aumento dessa lignificação (Figura 5C), onde a metacromasia aparece mais acentuada.**

Aos 70 dias após a antese, observa-se a formação do pigmento bixina nos canais secretores. Nesse estágio, o teor do pigmento apresentou aumento (0,88%), culminando com 1,61% aos 77 dias após a antese (Figura 4A), fase da maturação que ocorreu maior concentração do corante (Figuras 5D e 5E), resultados que concordam com as observações de Cavaliere (1991), quando afirma que o maior teor do corante é encontrado em sementes extraídas de cachopas secas na planta. Carvalho Neto (1989), estudando as sementes de cinco variedades de urucuzeiro obteve valores de bixina inferiores a 0,22%.

Essa oscilação de valores de bixina, observada nas sementes das variedades estudadas, pode ser atribuída ao fato de que o urucuzeiro é cultivado em áreas com diferentes tipos de clima e em regiões próximas das zonas equatorianas, sugerindo que possa estar

associada a fatores climáticos ou edáficos, ou relacionada com fatores genéticos da planta, ou ainda, à interação desses fatores (São José, 1990; Falesi & Kato, 1992).

Aos 84 dias após a antese, verificou-se um decréscimo no teor de bixina (0,67%), conforme pode ser visualizado na Figura 4F. No último estágio de desenvolvimento das sementes de urucu, os tegumentos apresentam-se altamente impermeáveis e lignificados, diminuindo a taxa de embebição, uma das causas da dormência nas sementes dessa espécie (Amaral et al., 2000; Custódio et al., 2002). A lignificação ocorre geralmente em células do tecido vascular, encontrado em quase todos os órgãos, sendo mais abundante em caules e raízes (Raes et al., 2003). A lignina se destaca como um dos maiores polímeros dos vegetais, com importante função na adaptação das plantas ao meio, sugerindo, portanto, que além de ter contribuído para a adaptação das plantas no processo evolutivo, também impermeabilizou a parede celular e habilitou o transporte de água e soluções pelo sistema vascular (Sarkanem & Ludwig, 1971).

Rolston (1978) também mostrou que durante o desenvolvimento das sementes de *Bixa orellana* o tegumento interno se espessa muito apresentando, quando maduras, um padrão semelhante ao das leguminosas arbóreas, que apresentam impermeabilidade à água, um tipo de dormência muito frequente nessa família e em Malvaceae, Geraniaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Solanaceae e Liliaceae (Kramer & Kozlowiski, 1972; Roberts, 1972; Carvalho & Nakagawa, 2000) como verificado em *Caesalpinia ferrea*, *Cassia grandis* e *Samanea saman* (Lopes et al., 1998); *Bauhinia monandra* e *Bauhinia unguolata* (Alves, et al., 2000); *Mimosa caesalpiniaefolia* (Bruno et al., 2001); *Bowdichia virgilioides* (Sampaio et al., 2001; Smiderle & Souza, 2003); *Lotus subbiflorus* (Jacob Júnior et al., 2004).

Verificou-se, também, que após 84 dias da antese, além da deiscência dos frutos, houve oxidação da bixina, determinando um decréscimo no seu conteúdo (Figuras 4A e 5F). Verificou-se, nesse estágio de maturação, que o processo de oxidação promoveu um escurecimento das sementes, tornando-as com coloração vermelho-escuro, com pontuações enegrecidas.

### **Conclusões**

Os resultados obtidos nesta pesquisa permitem concluir que:

a maturação fisiológica das sementes é atingida aos 77 dias após a antese;  
ocorre a deiscência dos frutos após 84 dias da antese;

após 84 dias da antese as sementes apresentam coloração vermelho-escuro;  
 o teor de água e o peso de matéria seca são os índices que melhor caracterizam a maturação e época de coleta das sementes;  
 maior porcentagem de germinação e teores mais elevados do pigmento bixina são obtidos aos 77 dias após a antese, época em que a colheita deve ser realizada;  
 os macrosclereídeos, após 84 dias da antese apresentam-se bastante lignificados, com alta metacromasia evidenciada *in situ*, pelo azul de toluidina.

### *Agradecimentos*

**Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor.**

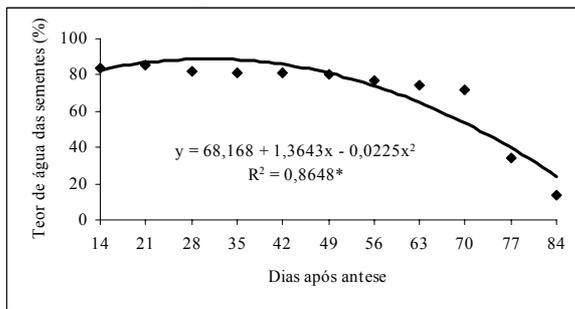
**Aos bolsistas e funcionários do Laboratório de Pigmentos e Secagem do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa-MG, pelo auxílio durante a extração do corante.**

**Tabela 1:** Parâmetros físicos e morfológicos dos frutos e sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde, coletados durante 84 dias após a antese. Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes. 2004

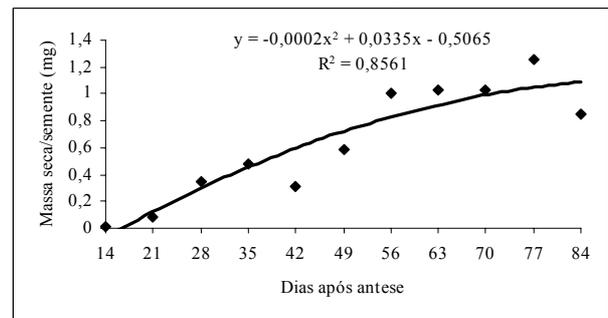
| Dias após a antese | Comprimento dos frutos (cm) | Diâmetro dos frutos (cm) | Coloração dos frutos | Coloração das sementes |
|--------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------|------------------------|
| 14                 | 1,0                         | 0,6                      | Verde                | Pêssego                |
| 21                 | 3,0                         | 2,0                      | Verde                | Rosa                   |
| 28                 | 3,8                         | 2,7                      | Verde                | Vermelha               |
| 35                 | 3,8                         | 2,5                      | Verde                | Vermelha               |
| 42                 | 3,7                         | 2,5                      | Verde                | Vermelha               |
| 49                 | 3,9                         | 2,9                      | Verde                | Vermelha               |
| 56                 | 3,7                         | 2,5                      | Verde                | Vermelha               |
| 63                 | 3,8                         | 2,8                      | Verde                | Vermelha               |
| 70                 | 4,1                         | 2,8                      | Verde                | Vermelha               |
| 77                 | 3,3                         | 2,8                      | Verde-amarronzado    | Vermelha-escuro        |
| 84                 | 3,4                         | 2,7                      | Marrom-escuro        | Vermelha-escuro        |



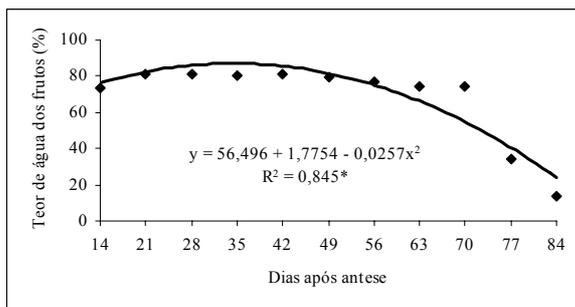
**Figura 1: Frutos de urucuzeiro em diferentes estádios de maturação.**



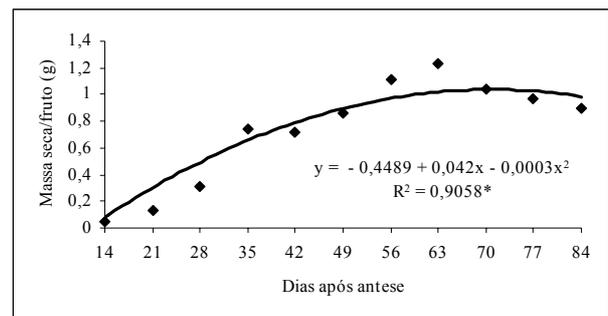
A



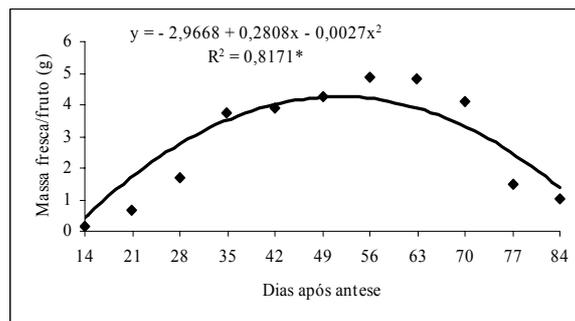
B



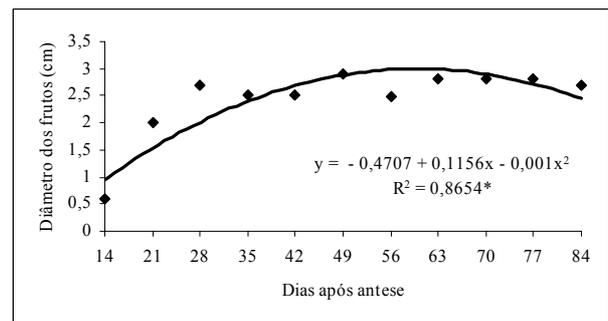
C



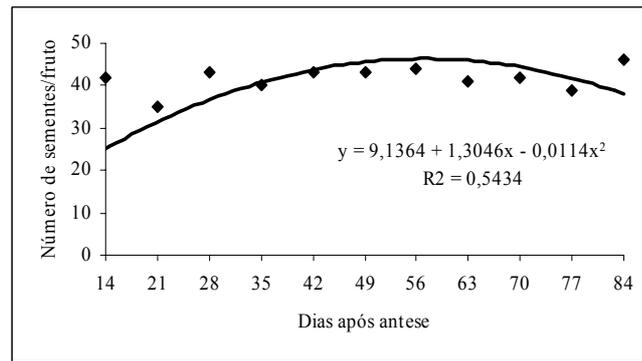
D



E

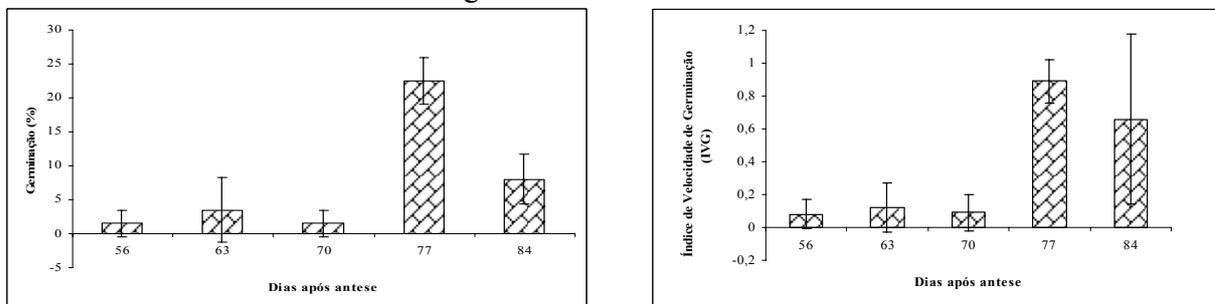


F



G

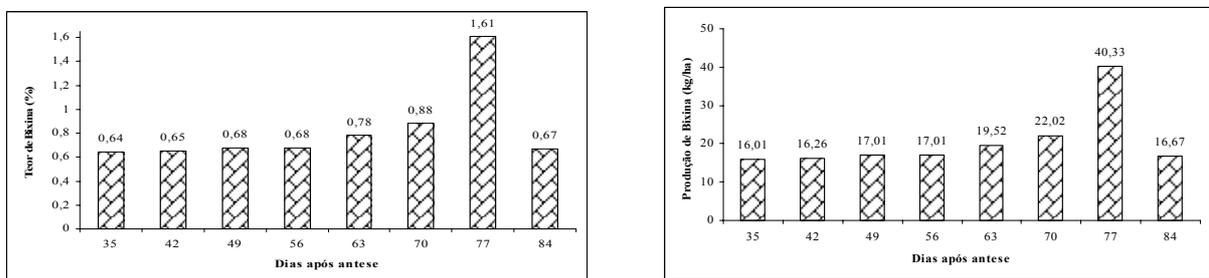
**Figura 2:** Teor de água (A) e massa seca (B) das sementes; teor de água (C), massa seca (D), massa fresca (E) e diâmetro (F) dos frutos e número de sementes por fruto (G) de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde em função de dias após a antese. Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes. 2004.



A

B

**Figura 3:** Germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde em diferentes estádios de maturação. Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes – CCA-UFES, Alegre-ES, 2004.

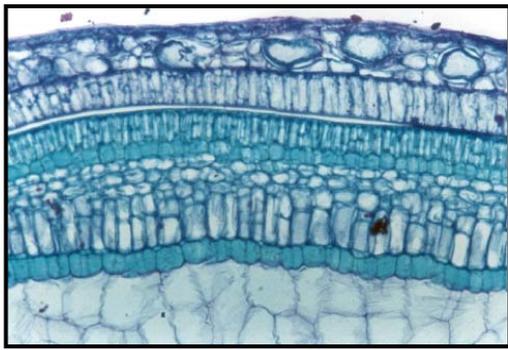


A

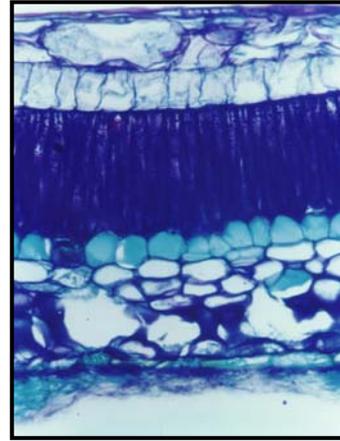
B

**Figura 4:** Variação no teor do pigmento bixina e produção de bixina ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde em diferentes estádios de maturação.

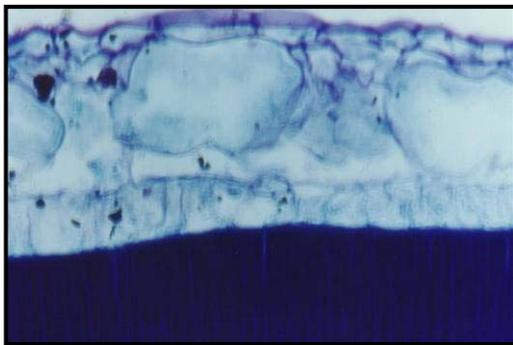




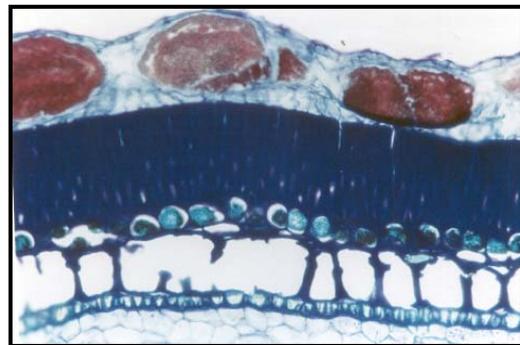
A



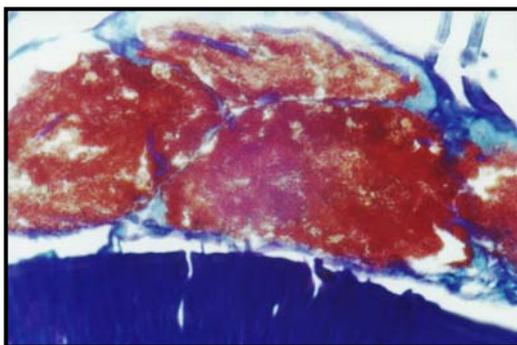
B



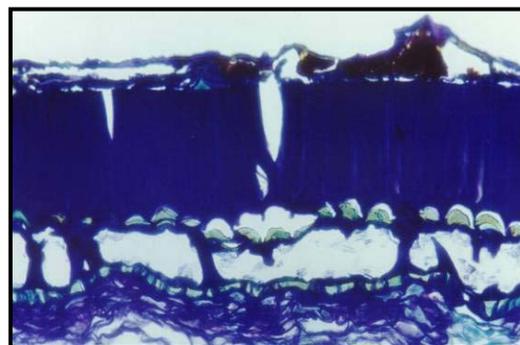
C



D



E



F

**Figura 5:** Cortes histológicos do tegumento evidenciando os canais secretores de bixina em sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde aos 21 dias após antese (A), 35 dias após a antese (B), 56 dias após

antese (C); 70 dias após antese (D), 77 dias após antese (E) e 84 dias após antese (F).

## Referências

ALVES, M.C.S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E.M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.139-144, 2000.

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.3, p.263-272, 2000.

ANGELUCCI, E. **As perspectivas para a agroindústria do urucu no Brasil**. [S.I.:s.n.], 1989. 3p. Mimeografado. Trabalho apresentado no Simpósio Brasileiro sobre Urucu, 1. Fortaleza, 1989.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York and London: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BRUNO, R.L.A.; ALVES,E.U.; OLIVEIRA, A.P.; PAULA, R.C. . Tratamentos pré-germinativos para superar a dormência de sementes de *Mimosa caesalpineaeefolia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.136-143. 2001.

CÂNOVA, R. Urucum. 2000. Disponível em: <<http://alemdojardim.terra.com.br/alem>> Acesso em: 22 mai.2000.

CARVALHO NETO, E.T. **Cultura do urucu**. [S.I.: s.n.:], 16p. Mimeografado. 1989.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CAVALIERI, I. Culturas. **Manchete Rural**, Rio de Janeiro, n.55, p.81-82, out. 1991.

CORTELAZZO, A.L. Proteínas cotiledonares de soja: detecção *in situ* e mobilização durante a germinação. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 1986.

CUSTÓDIO, C.C.; MACHADO NETO, N.B.; CASEIRO, R.F.; IKEDA, M.; BOMFIM, D.C. Germinação de Sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.24, n.1, p.197-202. 2002.

DELOUCHE, J.C. Seed maturation. In: **Handbook of seed technology**. Mississipi: Mississipi State University, p.17-23.1981.

DELVIN, R.M. **Plant Physiology**. Reinhold Publishing Corporation. New York, 1966. 564p.

ESPÍRITO SANTO. **Informações municipais do Estado do Espírito Santo 1994**. Vitória: Secretaria de Estado de Ações Estratégicas e Planejamento. Departamento Estadual de Estatística, 1994. v.1, 545p.

FALESI, I.C.; KATO, O.R. **A cultura do urucu no Norte de Brasil**. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1992. (EMBRAPA-CPATU, Documentos, 65).

FRANCO, C.O.F.; SILVA, F.C.P.; CAZÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; FONTINÉLLI, I.S.C. **Manejo da cultura do urucum (*Bixa orellana* L.)**. EMEPA. Paraíba. 2001.

JACOB JÚNIOR, E.A.; MENEGHELLO, G.E.; MELO, P.T.B.S.; MAIA, M.S. Tratamentos para superação de dormência em sementes de cornichão anual. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.26, n.2, p.15-19. 2004.

JELLER, H.; PEREZ, S.C.J.G.A. Estudo da superação da dormência e da temperatura em sementes de *Cassia excelsa* Schrad. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, nº 1, p.32-40, 1999.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, Mcgaw. 1940.

KATO, O.R.; FIGUEIRÊDO, F.J.C.; BELFORT, A.J.; NOGUEIRA, O.L.; BARBOSA, W.C. Época de colheita de sementes de urucu: emergência e teor de corantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.9, p.1291-1302, 1992.

KRAMER, P.J.; KOZLOZWISKI, T.T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745p.

LOPES, J.C. **Germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris***. 1990. 223 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

LOPES, J.C.; CAPUCHO, M.T.; KROHLING, B. ZANOTTI, P. Germinação de sementes de espécies florestais de *Caesalpineia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachya* Benth., *Cassia grandis* L. e *Samanea saman* Merrill, após tratamentos para superar a dormência. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.80-86, 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, v.1. 1998. 368p.

MAGUIRE, J.B. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MARTINS, S.V.; SILVA, D.D. Maturação e época de colheitas de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All.ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.96-99, 1997.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon Press, 1989, 270p.

O'BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Melbourne: Termarcarphi Pty, 1981. 316p.

PEREIRA, M.I.; ZANON, A.; SCHEFFER, M.C. Germinação de sementes de guaco – *Mimosa glomerata* Spreng. (Asteraceae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p.104. 1995.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

RAES, J.; ROHDE, A.; CHRISTENSEN, J.H.; PEER, Y.V.; BOERJAN, W. Genome-Wide Characterization of the Lignification Toolbox in Arabidopsis. **Plant Physiology**, n.133, p.1051- 1071 , 2003.

RAMALHO, R.S.; PINHEIRO, A.L.; DINIZ, G.S. Urucum: planta rústica e de alto rendimento. A Lavoura, Rio de Janeiro, p.24-31, jun./ago. 1988.

RANDI, A.M. **Aspectos fotomorfogênicos, bioquímicos e citoquímicos durante a germinação de esporos de *Cyathea delgadil* Sternb.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. 1987.

ROBERTS, E.H. Loss of viability and crop gelds. In: **Viability of seeds**. New York. Syracuse University, 1972. 448p.

ROLSTON, M.P. Water impermeable seed dormancy. **Botanical Review**. v.44. p.365-396, 1978.

SAMPAIO, L.S.V.; PEIXOTO, C.P.; PEIXOTO, M.F.S.P.; COSTA, J.A.; GARRIDO, M.S.; MENDES, L.N. Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K. – Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.184-190, 2001.

SÃO JOSÉ, A.R.; Exigências edafoclimáticas da cultura do urucum. In: SÃO JOSÉ, A.R.; SILVEIRA, M.A.; VILLELA, F.A.; TILLMANN, M.A.A. Maturação fisiológica de sementes de calêndula. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.24, n.2, p.31-37.2002 .

SARKANEM, K.V.; LUDWIG, C.H., ed. Lignins: **Occurrence, Formation, Structure and Reactions**, New York: Wiley-Intersci. 916p. 1971.

SEDIYAMA, M.A.N.; CASALI, V.W.D.; SILVA, E.A.M.; CARDOSO, A.A.; SILVA, R.F. Influência da época de colheita e estágio de maturação na germinação de sementes de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* BANC). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.1, p.69-71, 1991.

SILVEIRA, M.A.; VILLELA, F.A.; TILLMANN, M.A.A. Maturação fisiológica de sementes de calêndula. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília. v.24, n.2, p.31-37.2002 .

SMIDERLE, O.J.; SOUZA, R.C.P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth – Fabaceae – Papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.25, n.2, p.48-52, 2003.

STRINGHETA, P.C.; MASCARENHAS, J.M.O.; PONTES, L.O.; SILVA, J.N.; REIS, F.P. Determinação do teor de bixina em sementes do urucum (*Bixa orellana* L.) sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.3, p.47-52. 1999.

## Capítulo 2

# GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE URUCU EM DIFERENTES TEMPERATURAS E SUBSTRATOS

RESUMO – Objetivou-se neste trabalho analisar o comportamento germinativo das sementes de urucu cultivar Casca Verde, com e sem escarificação, sob regime de diferentes temperaturas e substratos. O trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial 2x6x4 (dois tratamentos físicos nas sementes, seis substratos e quatro temperaturas), totalizando 48 tratamentos, com quatro repetições de 50 sementes. Os tratamentos físicos foram: as sementes intactas e as sementes escarificadas; os substratos foram: a areia, a vermiculita, a fibra de coco, o pó de serra, o Plantmax<sup>®</sup> e o rolo de papel Germitest<sup>®</sup>; e, as temperaturas testadas foram constantes de 20, 25 e 30°C e alternada de 20-30°C. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Os resultados obtidos evidenciaram maior porcentagem de germinação das sementes de urucu semeadas nos substratos areia, vermiculita e rolo de papel; as temperaturas de 25, 30 e 20-30°C se mostram adequadas para testes de germinação de sementes de urucu.

Termos para indexação: *Bixa orellana* L., capacidade germinativa, vigor.

## GERMINATION OF ANNATTO SEEDS UNDER DIFFERENT TEMPERATURES AND SUBSTRATES

ABSTRACT – This work was carried out with the objective to verify the effect of temperature and substrate on germinative capacity of annatto seeds. This study was developed in the Laboratories of Seed Analysis of Agrarian Science Center that belongs the Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), located in Alegre – ES, Brazil. The experimental design was 2x6x4 factorial involving: (i) two treatments in the seeds, (ii) six substrate, and (iii) four temperatures. Four replications were realized using 50 seeds at each experimental unit. Treatments refer to intact and scarified seeds. Substrates utilized was sand, vermiculite, coconut fiber, wood fiber, Plantmax<sup>®</sup> and paper roll. Temperatures employed were 20, 25, 30 and 20-30° C. Average contrasts were verified using Tukey test at 5% of significance. According to outcomes can be concluded: (i) better percentages of germination occurred using sand substrate, vermiculite and paper roll; and (ii) temperatures of 25, 30 and 20-30°C can be utilized in germination test of annatto seeds.

Key Words: *Bixa orellana* L., germination capacity, vigor.

## INTRODUÇÃO

O urucuzeiro (*Bixa orellana* L.) é uma planta perene, característica da floresta amazônica de várzea, pertencente à família Bixaceae. É uma planta de importância condimentar de larga utilização na culinária, cultivada em muitas regiões do país para exploração de suas sementes e, como planta ornamental (Lorenzi, 1998). Sua propagação é feita preferencialmente por sementes (Ramalho et al., 1988; Hartmann et al., 1990), por ser o método mais fácil e econômico do que a propagação vegetativa e a micropropagação (Pereira et al., 1995). Entretanto, após a maturação das sementes, ocorre aumento de dureza do tegumento e impermeabilidade à água, fator de dormência da semente (Bewley & Black, 1994), necessitando, portanto, de escarificação para que as mesmas germinem (Amaral et al., 2001).

Dentre as condições ambientais que afetam o processo germinativo, a temperatura exerce uma influência significativa, sendo considerada como temperatura ótima, aquela na qual a mais alta porcentagem de germinação é obtida em menor espaço de tempo, enquanto temperaturas máximas e mínimas são pontos nos quais as sementes apresentam menor porcentagem de germinação (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). A temperatura tem efeito ainda na absorção de água pela semente e nas reações bioquímicas que regulam o metabolismo necessário para iniciar o processo germinativo (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Além da temperatura, o substrato exerce papel fundamental no comportamento germinativo das sementes. Ele corresponde ao meio onde a semente é colocada para germinar, possui a função de manter as condições adequadas para germinação das mesmas e para o desenvolvimento das plântulas (Piña-Rodrigues & Vieira, 1988; Figliola et al., 1993). Os fatores estrutura, aeração, capacidade de retenção de água e grau de infestação de patógenos podem variar de um substrato para outro, favorecendo ou prejudicando a germinação das sementes (Barbosa & Barbosa, 1985). Ele deve manter a disponibilidade de água e a aeração em proporções adequadas (Popinigis, 1985), evitando a formação de uma película de água envolta na semente (Villagomez et al., 1979).

Portanto, é importante descobrir quais as condições ideais de temperatura e substrato para a germinação das sementes, cujo teste fornece informações sobre o potencial de determinada amostra que germine em condições ideais de ambiente, e se feito de acordo com instruções estabelecidas nas Regras de Análise de Sementes, oferece a possibilidade de repetição dos resultados, (Krzyzanowski et al., 1999).

Na escolha do substrato, deve-se levar em consideração o tamanho da semente, a exigência da mesma em relação à quantidade de água, sua sensibilidade ou não em relação à luz. Dentre vários substratos testados, a areia e a vermiculita têm sido considerados de excelente qualidade para a germinação de sementes, uma vez que apresentam baixa contaminação de microrganismos (Brasil, 1992; Figliola et al., 1993).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a germinação de sementes de urucu cultivar Casca Verde em diferentes temperaturas e substratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), Alegre-ES.

Foram utilizadas sementes de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde, provenientes de plantas com cinco anos de idade, de um mesmo pomar de produção, colhidas no ponto de maturação fisiológica, após 77 dias da antese.

Os frutos coletados foram encaminhados ao Laboratório, onde foram extraídas as sementes, secas à sombra por 24 horas e avaliado o teor de água pelo método de estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Posteriormente, uma fração das sementes recebeu o tratamento de escarificação mecânica e a outra fração foi mantida intacta.

Na montagem deste experimento, foram utilizados os seguintes substratos: a areia, a vermiculita, a fibra de coco, o pó de serra, o Plantmax<sup>®</sup> e o rolo de papel Germitest<sup>®</sup>, e, as temperaturas testadas foram constantes de 20, 25 e 30°C e alternada de 20-30°C.

O teste de germinação foi realizado com quatro subamostras de 50 sementes semeadas em caixas de gerbox, contendo os substratos que foram umedecidos com água destilada na proporção de 15 mL, sendo o substrato papel Germitest<sup>®</sup> umedecido com água destilada, equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco. Todos os substratos foram esterilizados em

estufa a 160°C, durante quatro horas. No final do teste de germinação foram computadas as porcentagens de plântulas normais, anormais, sementes dormentes e sementes mortas (Brasil, 1992) e massa fresca e seca de plântulas normais. Para a determinação da massa seca foi utilizado o método de estufa à 80°C, durante 72 horas e pesadas em balança eletrônica.

**Foi utilizado um esquema fatorial 2x6x4, no delineamento inteiramente casualizado, num total de 48 tratamentos com quatro repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F. Os dados para interpretação foram apresentados com as médias dos dados originais. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey.**

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água e o peso de mil sementes, determinados nesta avaliação, no momento da colheita foram de 23% e 4,3 g, respectivamente.

As médias estimadas da porcentagem de germinação (protrusão da raiz principal) e de plântulas normais de sementes intactas e escarificadas, semeadas em diferentes substratos e sob diferentes temperaturas encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente, nas quais se verificam interações significativas entre substratos e temperaturas, nas diferentes condições físicas das sementes.

A interação significativa entre temperatura e substrato foi relatada por Figliola et al. (1993), onde afirmam que a capacidade de retenção de água e quantidade de luz que o substrato permite chegar à semente podem ser responsáveis por diferentes respostas obtidas na germinação, ainda que mantidas sob a mesma temperatura. Na temperatura de 20°C, considerando a protrusão da raiz principal (Tabela 1), foram obtidos maiores valores nos substratos vermiculita, pó de serra e rolo de papel, com destaque nas sementes intactas, à exceção dos substratos vermiculita e pó de serra.

Na temperatura de 25°C, todos os substratos testados apresentaram valores de germinação similares, diferindo somente do Plantmax<sup>®</sup>, que registrou valores menores, praticamente, não havendo diferença entre os tratamentos físicos da semente. Na temperatura de 30°C não ocorreram variações na porcentagem de germinação das sementes intactas mantidas nos substratos areia, vermiculita e rolo de papel, que foi significativamente maior do que nas sementes escarificadas, à exceção do rolo de papel que se manteve similar. Nesta

temperatura, as sementes escarificadas somente revelaram valores maiores no substrato pó de serra.

Sob temperatura alternada de 20-30°C, maiores valores de germinação (protrusão da raiz principal) foram registrados nas sementes intactas, nos substratos areia (55%), vermiculita (77%), pó de serra (72%) e rolo de papel (75%) e os mais baixos valores no substrato Plantmax<sup>®</sup> (25%), entretanto, as plântulas produzidas nos substratos fibra de coco, pó de serra e Plantmax<sup>®</sup> apresentavam deformações durante a fase inicial de desenvolvimento, culminando com plântulas anormais (Tabela 3).

A temperatura afeta a germinação, havendo uma temperatura ótima, na qual se verifica uma máxima velocidade e porcentagem de germinação, acima ou abaixo da qual a germinação é prejudicada (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). Estes resultados corroboram os obtidos por Gomes & Bruno (1992), que recomendam o substrato rolo de papel, sob temperatura alternada de 20-35°C para maiores porcentagens de germinação e desenvolvimento de plântulas de urucu. Entretanto, em sementes tratadas com escarificação mecânica não ocorreu variação na porcentagem da protrusão da raiz principal.

Este comportamento, verificado nessas sementes, pode ser explicado pelo fato das mesmas se encontrarem em fase de maturação, apresentando o tegumento ainda bastante macio, em relação às sementes secas após a deiscência dos frutos, embora Popinigis (1985) afirme que a dormência em muitas espécies se estabelece durante a maturação e as sementes não apresentam todo seu potencial germinativo.

Oliveira et al. (2001) investigaram a influência dos substratos (entre papel, sobre papel, entre areia e entre vermiculita) e das temperaturas (25, 30 e 20-30°C) sobre a germinação de sementes peletizadas de *Lycopersicon esculentum* e verificaram que os substratos entre areia e entre vermiculita são os mais adequados para a germinação nas temperaturas de 25 e 30°C.

Folli & Lopes (2004), estudando os efeitos de diferentes substratos e temperaturas sobre a germinação de sementes de *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) Schum., verificaram que os melhores resultados de germinação ocorreram sob temperaturas alternadas de 20-35°C, quando as sementes foram mantidas no substrato sobre areia.

Nassif & Perez (2000), estudando a influência da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo, concluíram que esta espécie tolera grandes variações de temperatura, ou seja, que as maiores porcentagens (91,5 e 98%) ocorreram em 18 e 30°C, respectivamente. Resultados similares foram encontrados para as sementes intactas de urucu, que apresentaram maior porcentagem de germinação quando submetidas à temperatura

constante de 30°C, juntamente com o substrato areia (81,5%), sem, contudo, diferir estatisticamente do substrato vermiculita (78,5% de sementes germinadas) (Tabela 1). Nesta temperatura, verificou-se, entretanto, que não houve interação significativa das sementes escarificadas com os substratos testados, havendo variação de resultados dentro dos substratos, sendo que vermiculita e fibra de coco apresentaram resultados similares, destacando-se dentre os demais, juntamente com o substrato areia.

De acordo com Figliola et al. (1993), na vermiculita, o contato entre as sementes e o substrato é bem maior, sendo recomendado para sementes de forma esférica e, sobre vermiculita como sendo um tipo de substrato indicado para todos os tipos de sementes, particularmente as sementes grandes com germinação lenta. Entretanto, Iossi et al. (2003), não recomendam o uso de vermiculita para testes de índice de velocidade de germinação em sementes e plântulas de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii*).

Para Varela et al. (1999), sementes de sumaúma alcançam uma alta taxa de germinação em temperatura de 30°C e alterações de 5°C para cima ou para baixo, reduzem a capacidade germinativa das mesmas. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Souza et al. (2000), que concluíram que temperaturas de 20, 20-25, 20-30 e 20-35°C resultaram nos menores valores médios de germinação para sementes desta espécie.

Silva & Aguiar (2004), estudando o efeito dos substratos e das temperaturas na germinação de sementes de faveleira, concluíram que os melhores substratos a serem utilizados em testes de germinação são: areia, vermiculita, papel Germitest<sup>®</sup> e papel filtro combinado com temperaturas alternadas de 20-30°C. Para o teste de vigor e velocidade de germinação, esses mesmos autores recomendam o substrato papel filtro combinado com temperaturas alternadas de 20-30°C.

As médias estimadas da porcentagem de germinação (plântulas normais) (Tabela 2) evidenciam que dentro de cada substrato houve variações com a mudança de temperatura e com o tratamento físico das sementes. Dentre os substratos testados, em todos os tratamentos físicos da semente, a fibra de coco, o pó de serra e o Plantmax<sup>®</sup> não se revelaram bons substratos para germinação dessas sementes. Já nos substratos areia, vermiculita e rolo de papel, embora tenham sido observadas variações na porcentagem de plântulas normais, foram evidenciados como os melhores substratos, para germinação de sementes de urucu, com e sem tratamentos físicos das sementes, em todas as temperaturas testadas, à exceção de 20°C para rolo de papel e sementes escarificadas em vermiculita.

A faixa ótima de temperatura para espécies de regiões tropicais está entre 20 e 35°C Larcher (2000), como para *Bixa orellana* L. (Gomes & Bruno 1992); *Chaetotropis elongata*

(Kunth) Björkman (Ferrari, 1999); *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (Santos et al., 1999) e *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (Santos & Aguiar, 2000). Cícero (1986) sugere que a alternância de temperatura age sobre os tegumentos das sementes, tornando-os mais permeáveis à água e ao oxigênio e parece ter equilíbrio sobre substâncias promotoras e inibidoras da germinação. Maior porcentagem de germinação e maior índice de velocidade de germinação de sementes de branquilha foram observados em temperatura alternada de 20-30°C (Santos & Aguiar, 2000).

## **CONCLUSÕES**

Considerando o ponto de maturação fisiológica das sementes, nas condições em que este trabalho foi conduzido, pode-se concluir que:

as temperaturas de 25, 30 e 20-30°C podem ser utilizadas em testes de germinação de sementes de urucu;

as sementes devem ser colocadas para germinar nos substratos areia, vermiculita e rolo de papel;

os substratos fibra de coco, pó de serra e Plantmax<sup>®</sup> mostraram-se inadequados para a germinação de sementes de urucu;

areia, vermiculita e rolo de papel foram os melhores substratos para germinação de sementes de urucu, com e sem escarificação.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.15, n.1, p.125-132, 2001.
- BARBOSA, J.M.; BARBOSA, L.M. Avaliação dos substratos, temperaturas de germinação e potencial de armazenamento de sementes de três frutíferas silvestres. **Ecossistema**, v.10, p.152-160, 1985.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York and London: Plenum Press, 1994. 445p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CÍCERO, S.M. **Dormência de sementes**. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES. Piracicaba: FEALQ, p.41-74. 1986.
- FERRARI, L. Efectos de la temperatura y de pretratamientos en la germinación de *Bothriochloa laguroides* (DC.) Herter Y *Chaetotropis elongata* (Kunth) Björkman. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.2, p.84-87, 1999.
- FIGLIOLA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLA, M.B. (eds.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p.137-174. 1993.
- FOLLI, M.S.; LOPES, J.C. Efeito de diferentes substratos e temperaturas sobre a germinação de sementes de cinco folhas. VIII ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. **Anais...**, 2004. v.1, p.503-507.
- GOMES, S.M.S.G.; BRUNO, R.L.A. Influência da temperatura e substratos na germinação de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.1, p.47-50, 1992.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, F.T. **Plant propagation: principles and practices**. 5.ed., New Jersey: Prentice – Hall International, 1990. 647p.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K.F.L.; BARBOSA, J.C. Efeitos de substratos e temperaturas na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.2, p.36-69, 2003.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora Rima, 2000. 531p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v.1. 1998. 368p.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon Press, 270p. 1989.

NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tull.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.1-6, 2000.

OLIVEIRA, A.P.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Influência do substrato e da temperatura na germinação de sementes peletizadas de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.72-77, 2001.

PEREIRA, M.I.; ZANON, A.; SCHEFFER, M.C. **Germinação de sementes de guaco – *Mimosa glomerata* Spreng. (Asteraceae)**. Horticultura Brasileira, Brasília, v.13, n.1, p.104. 1995.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, J.D. **Teste de germinação**. In: Piña-Rodrigues, F.C.M. (ed). Manual de análise de sementes florestais. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.70-90.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: ABRATES, 1985. 298p.

RAMALHO, R.S.; PINHEIRO, A.L.; DINIZ, G.S. Urucum: planta rústica e de alto rendimento. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, p.24-31, jun./ago. 1988.

SANTOS, S.R.G.; AGUIAR, I.B. Germinação de sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs) em função do substrato e do regime de temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.120-126, 2000.

SANTOS, C.M.; SOUZA, G.R.L.; SILVA, J.R.; SANTOS, A.L.M. Efeitos da temperatura e do substrato na germinação de semente do maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.1-6, 1999.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoculus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (Faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.9-14, 2004.

SOUZA, M.P.; BRAGA, L.F.; BRAGA, J.F.; SÁ, M.E.; MORAES, M.L.T. Influência da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. – BOMBACACEAE). **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.110-119, 2000.

VARELA, V.P.; FERRAZ, I.D.K.; CARNEIRO, N.B. Efeito da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. – BOMBACACEAE). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.170-174, 1999.

VILLAGOMEZ, A.Y.; VILLASENOR, R.R.; SALINAS, M.J.R. **Lineamento para el funcionamiento de um laboratório de semillas**. México: INIA, 1979. 91p.

**Tabela 1** – Germinação (protrusão da raiz principal) (%) de sementes intactas e sementes escarificadas de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes temperaturas e substratos. 2005.

| Substratos    | Sementes Intactas |         |          |          | Sementes Escarificadas |         |         |         |
|---------------|-------------------|---------|----------|----------|------------------------|---------|---------|---------|
|               | 20°C              | 25°C    | 30°C     | 20-30°C  | 20°C                   | 25°C    | 30°C    | 20-30°C |
| Areia         | 77,0 aA           | 75,0 aA | 81,5 aA  | 55,0 abA | 57,0 aB                | 62,5 aA | 61,0 aB | 46,5 aA |
| Vermiculita   | 70,0 abA          | 77,5 aA | 78,5 aA  | 77,5 aA  | 64,25 aA               | 62,5 aA | 54,5 aB | 51,5 aB |
| Pó de coco    | 41,0 cA           | 57,5 aA | 54,5 bA  | 51,5 bA  | 46,5 abA               | 31,0 bB | 28,0 bB | 33,0 aB |
| Pó de serra   | 68,5 abA          | 72,0 aA | 25,0 cB  | 72,0 abA | 60,0 aA                | 57,0 aA | 56,0 aA | 56,0 aA |
| Plantmax      | 53,0 bcA          | 25,0 bB | 25,5 cA  | 25,0 cB  | 36,5 bB                | 57,0 aA | 10,5 bA | 56,5 aA |
| Rolo de papel | 76,0 aA           | 69,5 aA | 73,5 abA | 75,0 abA | 48,0 abB               | 56,5 aA | 61,0 aA | 56,0 aB |

As médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 2** – Germinação (plântulas normais) (%) de sementes intactas e sementes escarificadas de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes temperaturas e substratos. 2005.

| Substratos    | Sementes Intactas |         |         |         | Sementes Escarificadas |         |                    |         |
|---------------|-------------------|---------|---------|---------|------------------------|---------|--------------------|---------|
|               | 20°C              | 25°C    | 30°C    | 20-30°C | 20°C                   | 25°C    | 30°C <sup>ns</sup> | 20-30°C |
| Areia         | 60,5 aA           | 40,5 bB | 63,0 aA | 35,0 bA | 17,5 aB                | 54,0 aA | 50,0               | 33,0 aA |
| Vermiculita   | 63,5 aA           | 69,5 aA | 71,0 aA | 71,0 aA | 4,5 bB                 | 58,5 aA | 54,0               | 41,0 aB |
| Pó de coco    | 1,5 bA            | 6,0 cA  | 0,0 cA  | 9,0 cA  | 0,0 bA                 | 0,0 bA  | 54,0               | 2,5 bA  |
| Pó de serra   | 0,0 bA            | 0,0 cA  | 0,0 cA  | 0,0 cA  | 0,0 bA                 | 0,0 bA  | 0,0                | 0,0 bA  |
| Plantmax      | 0,0 bA            | 5,0 cA  | 23,0 bA | 0,5 cA  | 0,0 bA                 | 7,5 bA  | 3,5                | 1,0 bA  |
| Rolo de papel | 0,0 bA            | 68,0 aA | 73,5 aA | 64,5 aA | 0,0 bA                 | 53,0 aB | 16,0               | 46,0 aB |

As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Interação não significativa.

**Tabela 3** – Plântulas anormais (%) oriundas da germinação de sementes intactas e sementes escarificadas de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes temperaturas e substratos. 2005.

| Substratos  | Sementes Intactas |          |          |          | Sementes Escarificadas |          |          |         |
|-------------|-------------------|----------|----------|----------|------------------------|----------|----------|---------|
|             | 20°C              | 25°C     | 30°C     | 20-30°C  | 20°C                   | 25°C     | 30°C     | 20-30°C |
| Areia       | 16,5 dB           | 34,0 bcA | 18,5 bcA | 20,0 cA  | 39,5 bA                | 8,5 cdB  | 10,5 bcA | 13,5 bA |
| Vermiculita | 6,5 dB            | 8,0 dA   | 0,5 bcA  | 7,0 cA   | 53,0 abA               | 4,0 dA   | 0,5 cA   | 9,5 bA  |
| Pó de coco  | 39,5cA            | 51,5abA  | 28,0 aA  | 42,5 bA  | 46,5 abA               | 31,0 bcB | 28,0 bB  | 30,0 bA |
| Pó de serra | 68,5 abA          | 72,0 aA  | 56,0 bB  | 72,0 aA  | 60,0 aA                | 57,0 aA  | 56,0 aA  | 56,0 aB |
| Plantmax    | 53,0 bcA          | 20,0 cdB | 4,5 bcA  | 24,5 bcB | 36,5 bB                | 50,5 abA | 4,5 cA   | 55,5 aA |

**Rolo de papel**    76,0 aA    1,5 dA    1,0 cA    10,5 cA    48,0 abB    3,5 dA    1,0 cA    10,0 bA

As médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Capítulo 3

## GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE URUCU

RESUMO – A semente do urucu apresenta baixa germinação devido ao fenômeno da dormência. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), com o objetivo de avaliar a germinação de sementes e o desenvolvimento de eixos embrionários de urucu (*Bixa orellana* L.), cultivar Casca Verde, em meio de cultivo *in vitro*, com diferentes níveis de ágar. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4, sendo três tratamentos para as sementes: sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST), eixos embrionários (E) e quatro níveis de ágar (4, 6, 8 e 10 g L<sup>-1</sup>), em meio básico MS, com duas repetições de cinco tubos e uma semente por tubo. O critério de avaliação adotado foi a protrusão da raiz principal, com 2 mm de comprimento para sementes intactas e sem tegumento e desenvolvimento da radícula para eixos embrionários. Sementes sem tegumento em meio de cultura contendo 4 g L<sup>-1</sup> de ágar apresentaram maior porcentagem de germinação. Maiores porcentagens de plântulas normais foram observadas no desenvolvimento de eixos embrionários em meio de cultura contendo 10 g L<sup>-1</sup> de ágar. Sementes intactas apresentaram as menores porcentagens de germinação e de plântulas anormais em 4 e 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. Maiores massas fresca e seca das plântulas normais ocorreram na germinação de sementes sem tegumento em meio de cultivo com 10 g L<sup>-1</sup> de ágar.

Termos para indexação: *Bixa orellana* L., meio de cultura, ágar.

## GERMINATION *IN VITRO* OF ANNATTO SEEDS

ABSTRACT – The annatto seeds present low germination due to the dormancy phenomenon. This study was carried out in the Laboratory of Biotechnology of Agrarian Science Center that belongs the Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), located in Alegre ES, Brazil. Objectives were to evaluate germination of seeds and the development of embryo axis of annatto (*Bixa orellana* L.), cultivar Casca Verde (green tegument) in medium of cultivation *in vitro* with different agar concentrations. The experiment design was 3 x 4 factorial design. It was used: (i) intact seeds (SI), seeds without tegument (SST) and embryo axes of annatto (E); and (ii) four levels of agar concentrations (4, 6, 8 and 10 g L<sup>-1</sup>) were used in a basic medium MS. Two replications were realized using at each five tubes with one seed per tube. The germination criterion adopted was the protrusion of the principal root with size equal or greater than 2mm. Seeds without tegument in culture medium containing 4 g L<sup>-1</sup> agar presented better germination percentage. Highest percentage of normal seedlings was obtained in the development of embryo axes in culture medium containing 10 g L<sup>-1</sup> of agar. Intact seeds presented the lowest germination values and abnormal seedlings in 4 and 6 g L<sup>-1</sup> agar. Better values of fresh and dry weight of normal seedlings occurred in the germination of seeds without tegument in culture medium with concentration of 10 g L<sup>-1</sup> of agar.

Index terms: *Bixa orellana* L., culture medium, agar.

## *INTRODUÇÃO*

Para que a germinação ocorra com eficiência, é necessário que as sementes estejam viáveis, não dormentes, e as condições ambientais sejam favoráveis. A dormência pode ocorrer devido a diversos fatores, como: o embrião imaturo, a impermeabilidade do tegumento, a presença de inibidores químicos, a ausência de promotores de germinação e as exigências especiais de luz ou temperatura (Bewley & Black, 1994), além do efeito inibitório dos cotilédones (Taiz & Zeiger, 2004).

O urucuzeiro é uma espécie rústica, pouco exigente em tratamentos culturais e de crescimento rápido (Ramalho et al., 1987). Suas sementes constituem-se na via de propagação mais empregada na implantação dos campos produtores de urucu, sendo classificadas como tégmicas, onde o tégma é o responsável pela proteção do embrião e de outros tecidos internos e a testa tem a função de secreção de corantes (Chopra & Kaur, 1965). Nesta espécie, a maturação das sementes culmina com aumento da impermeabilidade do tegumento à água, mecanismo de dormência imposta pelo tégmen, sendo necessária, então, a escarificação das sementes para que as mesmas germinem (Amaral et al., 2001).

Esta escarificação pode ser feita utilizando-se tratamentos especiais com solventes orgânicos (álcool e acetona), ácidos fortes (ácido sulfúrico concentrado), água quente (termoterapia), além do aquecimento a seco e escarificação mecânica, onde se provoca um desgaste na testa das sementes (Amaral et al., 1995). Rolston (1978) verificou que, durante o

desenvolvimento das sementes desta espécie, o tegumento interno se espessa acentuadamente, atingindo um padrão semelhante ao das leguminosas arbóreas, após a maturação.

Embriões cultivados *in vitro* permitem estudar as necessidades nutricionais e físicas para seu desenvolvimento, superar a dormência em certos tipos de sementes, testar a viabilidade das sementes, obter híbridos interespecíficos viáveis, além de aplicar técnicas de duplicação cromossômica (Pasqual & Pinto, 1988).

O crescimento e o desenvolvimento do embrião zigótico depende da espécie, podendo durar 35 dias em *Prunus* (Pedrotti et al., 1992) e 140 dias em macieira (Zhang & Lespinasse, 1991). Segundo Maciel et al. (2000), a propagação *in vitro* é uma técnica de cultura de tecidos bem sucedida e propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção em curto espaço de tempo e em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade vegetal.

Os meios de cultura sólidos ou semi-sólidos são, na maioria das vezes, solidificados com ágar, e a consistência desses meios depende de fatores como qualidade e nível do ágar, que pode variar de 4 a 10 g L<sup>-1</sup> (Caldas et al., 1998), do pH, do tipo de explante, dentre outros, que podem interferir na gelificação do meio (Murashige, 1974; Caldas et al., 1998), não havendo uma formulação-padrão no cultivo *in vitro*, sendo, entretanto, utilizado o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com sucesso para diversas espécies (Grattapaglia & Machado, 1998). Para *Bixa orellana*, apesar do trabalho de micropropagação feito por Almeida et al. (1995), não foram encontrados trabalhos que demonstrassem a evolução e os estádios de desenvolvimento dos embriões zigóticos em função do meio de cultura e do tempo de incubação *in vitro*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de sementes e o desenvolvimento de eixos embrionários de urucu (*Bixa orellana* L.) cultivar Casca Verde, em meio de cultivo *in vitro* com diferentes níveis de ágar.

## ***MATERIAL E MÉTODOS***

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), em Alegre-ES, de outubro a dezembro de 2004.

Foram utilizadas sementes de urucu (*Bixa orellana* L.), cultivar Casca Verde, provenientes de plantas com cinco anos de idade, de um mesmo pomar de produção, colhidas em outubro de 2004. Os frutos colhidos foram uniformizados por estágio de maturação (coloração marrom, antes da deiscência), e nas sementes, foram realizados os seguintes testes: **germinação *in vitro*** – realizada com sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST) e eixos embrionários (E).

Para a retirada dos tegumentos e dos eixos embrionários, as sementes foram escarificadas com lixa d'água número 220 e colocadas para embeber em água destilada por 24 horas. Posteriormente, procedeu-se a desinfestação das sementes escarificadas e embebidas e das sementes intactas com álcool a 70%, por 30 segundos e com hipoclorito de sódio a 1%, por 10 minutos. Em seguida, as sementes foram levadas para câmara de fluxo laminar, lavadas com água esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito de sódio e retirados os tegumentos e eixo embrionários com auxílio de pinça e bisturi, que foram novamente desinfestados com hipoclorito de sódio 0,5% e em seguida lavados com água esterilizada.

O cultivo *in vitro* foi feito em meio MS completo e solidificado com ágar da marca Lafan, sendo o pH aferido para  $5,7 \pm 0,1$  antes da autoclavagem. Posteriormente, este meio foi distribuído em tubos de ensaio de 25x150 mm (10 mL tubo<sup>-1</sup>) e os mesmos foram tapados

com papel alumínio e esterilizados em autoclave à temperatura de 121°C e pressão de 1,05 kgf cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos e levados para sala de crescimento para que esfriassem antes de se proceder a inoculação.

Após a inoculação das sementes intactas (SI), das sementes sem tegumento (SST) e dos eixos embrionários (E), os tubos foram novamente tapados com papel alumínio, vedados com parafilme e mantidos em sala de crescimento à temperatura constante de 27±2°C e fotoperíodo de 16 horas, sob lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia fornecendo 1.000 Lux de intensidade luminosa. O critério de avaliação adotado foi a protrusão da raiz principal, com 2 mm de comprimento para sementes intactas e sem tegumento, e desenvolvimento da radícula para eixos embrionários.

Ao final do teste de germinação *in vitro*, foram computados os valores referentes: às **porcentagens de sementes dormentes (SD), de sementes mortas (SM) e de eixos embrionários mortos (EM)**; à **classificação do vigor de plântula** – realizada ao final do experimento até 30 dias após a inoculação. As plântulas foram classificadas como normais e anormais, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992); às **massas fresca e seca das plântulas** – foram determinadas utilizando-se as plântulas classificadas como normais no final do teste de germinação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4, com duas repetições de cinco tubos e uma semente/eixo embrionário por tubo, sendo três tratamentos para as sementes: sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST), devido ao fato do tegumento apresentar grande resistência à absorção de água pela semente, e apenas eixos embrionários (E), e quatro níveis de ágar Lafan (4, 6, 8 e 10 g L<sup>-1</sup>). Os resultados obtidos, exceto de plântulas normais e anormais, foram submetidos à análise de regressão de modelo polinomial.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A variação dos níveis de ágar no meio de cultura influenciou a germinação das sementes e o desenvolvimento de eixos embrionários (Figura 1). Verificou-se pelos resultados obtidos, que sementes intactas (SI) não germinaram no nível de 4 g L<sup>-1</sup> de ágar e, apresentaram aumento gradativo na germinação à medida que se aumentou esse nível no meio de cultura, culminando com 33,0% de sementes germinadas, conforme pode ser observado pela aplicação da análise de regressão (R<sup>2</sup>=0,82).

Para as sementes sem tegumento (SST), a germinação atingiu 83,0% em meio de cultura com 4 g L<sup>-1</sup> de ágar, caindo progressivamente à medida que se aumentou o nível deste agente solidificante ao meio, conforme pode ser visto pela aplicação da análise de regressão (R<sup>2</sup>=0,82). A menor porcentagem de germinação nas sementes intactas pode ser explicada pela resistência que o tegumento oferece à absorção de água e, conseqüentemente, à germinação, fato comprovado pelo resultado nas sementes sem tegumento, onde a germinação atingiu valores mais altos em níveis de 4 g L<sup>-1</sup> de ágar.

A remoção ou injúria do tegumento por escarificação química ou mecânica, além de aumentar a permeabilidade à água, pode ainda levar a outras mudanças tais como: o aumento da sensibilidade à luz, temperatura e permeabilidade a gases, a remoção de promotores ou inibidores, afetando o metabolismo da semente e conseqüentemente a sua dormência (Khan, 1977). Por outro lado, o aumento no nível de ágar no meio de cultura, até 10 g L<sup>-1</sup>, favoreceu o desenvolvimento de eixos embrionários, atingindo 60,5 %, conforme pode ser observado pela Figura 1 (R<sup>2</sup>=0,98).

Santa-Catarina et al. (2001), estudando a germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez), afirmam que a maior porcentagem média de germinação *in vitro* (78,5%) foi obtida com o uso de embriões zigóticos coletados aos 360 dias após a floração e 50 dias após a inoculação. Castellani, et al. (2001), trabalhando com caracterização morfológica de frutos e sementes de *xylóbia*, não obtiveram germinação das sementes quando a sementeira foi feita em meio de cultura.

A análise de germinação mostrou, também, que os eixos embrionários apresentaram maiores porcentagens de plântulas normais de acordo com a Figura 2A. Verificou-se: bom desenvolvimento da raiz principal, com presença de raízes secundárias; crescimento e diferenciação do hipocótilo; hipocótilo longo e cilíndrico, com coloração rosada na base e esverdeada em direção aos cotilédones; cotilédones cordiformes, em expansão e verdes (Brasil, 1992).

Com 4 g L<sup>-1</sup> de ágar ocorreu grande percentual (81,5%) de plântulas anormais a partir de sementes sem tegumentos, e redução deste percentual com aumento do nível de ágar,

chegando a 18,5% no nível de 10 g L<sup>-1</sup> (Figura 2B). Nestas plântulas as características evidenciadas foram: a ausência de raiz principal, ou presença bifurcação; a ocorrência de plântulas raquíticas e plântulas deterioradas. Plântulas normais e anormais com características similares às encontradas nesse trabalho foram descritas por Pereira (1995). Os eixos embrionários apresentaram pequena variação no percentual de plântulas anormais nos diferentes níveis de ágar, sendo que este percentual foi máximo (21,0%) para o nível de 4 g L<sup>-1</sup> de ágar.

Observa-se pela Figura 3A, que a massa fresca das plântulas oriundas de sementes intactas teve valores crescentes em níveis de até 7,64 g L<sup>-1</sup> de ágar, decrescendo à medida que este nível aumentou, conforme mostra análise de regressão ( $R^2=0,99$ ). A explicação para este fenômeno pode estar associada ao fato de que em meio aquoso há maior absorção de água pelos tecidos dos explantes (Willians & Leopold, 1989). Comportamento contrário foi observado nas sementes sem tegumento, onde ocorreu aumento gradativo na massa fresca das plântulas à medida que se adicionou o ágar no meio de cultura, como mostra a análise de regressão ( $R^2=0,92$ ), atingindo valor máximo no nível de 10 g L<sup>-1</sup> de ágar.

No desenvolvimento de eixos embrionários, pode-se observar pouca variação na massa fresca das plântulas, em função do aumento de ágar ao meio de cultura, como se verifica pela análise de regressão ( $R^2=0,99$ ), sendo o ponto máximo igual a 6,79 g L<sup>-1</sup> de ágar.

Pasqual et al. (2002), estudando o cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira, obtiveram maiores valores de massa fresca em meios de cultivo na ausência de ágar ou em baixo nível do mesmo, ocorrendo uma redução nesta característica à proporção que se acrescenta ágar ao meio.

A massa seca das plântulas apresentou variações entre os tipos de sementes e/ou eixos embrionários e dentre os níveis de ágar utilizados no meio de cultura (Figura 3B). Em plântulas oriundas de sementes intactas ocorreu um aumento no peso da massa seca até 7,75 g

L<sup>-1</sup> de ágar, com posterior queda à medida que este nível aumentou, conforme mostra a análise de regressão ( $R^2= 0,99$ ).

Em plântulas oriundas de sementes sem tegumento, a massa seca foi crescente com o aumento do nível de ágar ao meio de cultura. Este resultado pode ser atribuído ao fato de que maiores níveis de ágar no meio de cultivo favorecem a absorção de minerais e, conseqüentemente, maior acúmulo de biomassa, culminando com maior massa seca.

De acordo com Salisbury & Ross (1994), maior massa seca de plantas, significa maior acúmulo de fotoassimilados e maior absorção de minerais.

Peixoto & Pasqual (1991), estudando a influência do pH e do ágar na absorção *in vitro* de nutrientes em brotações de videira (*Vitis* spp), demonstraram que após 45 dias de cultivo ocorreram variações na absorção dos nutrientes K, S, Fe, Mn, Ca, Mg, P, Zn e Cu em função dos diferentes pH e níveis de ágar utilizados (3,5, 7,0 e 10,5 g L<sup>-1</sup>). Quanto ao desenvolvimento dos eixos embrionários, observa-se, ainda na Figura 3B, que o peso de massa seca assumiu valores crescentes até o nível de 6,67 g L<sup>-1</sup> de ágar, sofrendo ligeira queda à medida que se adicionou ágar ao meio de cultura, conforme mostra a análise de regressão ( $R^2= 0,57$ ).

Resultados semelhantes foram encontrados por Pasqual et al. (2002), onde houve redução na massa seca de brotações com o aumento do nível de ágar ao meio de cultivo. Brouwer (1962), em uma revisão sobre distribuição de massa seca nas diferentes partes da planta, afirma que uma parte dessas correlações é fixada geneticamente e, dentro desses limites, as condições externas podem exercer um efeito modificador. De acordo com Benincasa (1988), cerca de 90% de massa seca acumulada pelas plantas, ao longo de seu crescimento, são resultantes da atividade fotossintética e o restante depende da absorção de minerais do meio.

As porcentagens de sementes dormentes (SD), sementes mortas (SM) e eixos embrionários mortos (EM), verificadas no final desse experimento, encontram-se na Figura 4. No nível de 4 g L<sup>-1</sup> de ágar, ocorreu 100% de sementes dormentes, verificadas apenas em sementes intactas, cujos valores decaíram progressivamente à medida que se aumentou o nível de ágar no meio de cultivo, conforme mostra a análise de regressão ( $R^2= 0,82$ ) (Figura 4A).

Para sementes de buriti, a dormência pode ser quebrada quando as mesmas são expostas à temperaturas de 30 a 40°C, por um período de 15 dias, e esta dormência não é devida ao embrião, uma vez que a taxa de germinação de embriões *in vitro* é superior a 90% (Spera et al., 2001).

Com relação às sementes mortas, cuja presença foi detectada somente nas sementes sem tegumento, o comportamento foi contrário. O aumento do nível de ágar ao meio de cultivo, determinou aumento, cujos valores oscilaram entre 20% em 4 g L<sup>-1</sup> e 60% em 8 g L<sup>-1</sup> de ágar, como pode ser observado na análise de regressão ( $R^2= 0,82$ ) (Figura 4B).

No caso de eixos embrionários mortos, o comportamento foi semelhante ao das sementes dormentes, ou seja, os valores decaíram à medida que se aumentou o nível de ágar ao meio de cultivo, com um máximo de 60% em 4 g L<sup>-1</sup> de ágar e um mínimo de 40% em 10 g L<sup>-1</sup> de ágar, como evidenciou a análise de regressão ( $R^2= 0,98$ ) (Figura 4C).

Silva et al. (2001), estudando cultura de embriões imaturos e organogênese da canela sassafrás, conseguiram 85% de germinação de embriões imaturos quando submetidos a 30 dias de refrigeração à 4°C e mantidos durante 100 dias em cultura, tendo sido verificada também a ocorrência de embriões dormentes logo após a colheita.

## CONCLUSÕES

Considerando as condições em que este trabalho foi realizado, pode-se concluir que:

maior germinação foi obtida em sementes sem tegumento em 4 g L<sup>-1</sup> de ágar;

maiores porcentagens de plântulas normais foram observadas para eixos embrionários em 10 g L<sup>-1</sup> de ágar;

sementes intactas apresentaram menor germinação em 4 g L<sup>-1</sup> de ágar;

maiores massas fresca e seca ocorreram em germinação de sementes sem tegumento em 10 g L<sup>-1</sup> de ágar;

### **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

### **REFERÊNCIAS**

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.15, n.1, p.125-132, 2001.

AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A.; CORTELAZZO, A.L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v.7, n.2, p.151-157, dez. 1995.

ALMEIDA, J.L.; ALMEIDA, F.C.G.; NUNES, R.P.; ALMEIDA, F.A.G. Indução de enraizamento na micropropagação do urucueiro. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v.21, p.129-135, 1955.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York and London: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BROUWER, R. Distribution of dry matter in the plant. **Netherlands Journal of agricultural Science**, v.10, n.5, p.361-376, 1962.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA; CBAB, 1998. P.87-132.

CASTELLANI, E.D.; DAMIÃO-FILHO, C.F.; AGUIAR, I.B. Caracterização morfológica de frutos e sementes de espécies arbóreas do gênero *Xylopia* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.205-211, 2001.

CHOPRA, R.N.; KAUR, H. Embryology of *Bixa orellana* Linn. **Phytomorphology**, 15:211-215, 1965.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

KHAN, A.A., ed. Seed dormancy: changing concepts and theories. In: **The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination**. New York: North - Holland Publishing Company, 1977. 447p.

MACIEL, A.L.R.; SILVA, A.B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.9-12, jan/mar., 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, v.25, p.135-166, 1974.

PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de embriões**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 13p.

PASQUAL, M.; FINOTTI, D.R.; DUTRA, L.F.; CHAGAS, E.A; RIBEIRO, L.O. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira “Poncã” em função do pH e da concentração de ágar. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.8, n.3, p.199-202, set-dez, 2002.

PEDROTTI, E.L.; LELU, M.A.; BILLOT, I.; CORNU, D. Morphogenetic response on wild cherry (*Prunus avium* L.) immature embryos. In: Mass production technology for improved

fast growing forest tree species. In: **Proceedings of Symposium Bordeaux**, Bordeaux, p.67-72. 1992.

PEIXOTO, P.H.P.; PASQUAL, M. Influência do pH e do ágar na absorção *in vitro* de nutrientes em brotações de videira (*Vitis* spp.). In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL. Viçosa. 1991. p.81.

PEREIRA, T.S. Caracterização de plântulas de *Bixa orellana* L. – urucu (Bixaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.243-248, 1995.

RAMALHO, R.S.; PINHEIRO, A.L.; DINIZ, G.S. Informações básicas sobre a cultura e utilização do urucu (*Bixa orellana* L.) Viçosa. **Informe Técnico**, v.59, n.8, p.1-22. Universidade Federal de Viçosa, Conselho de Extensão, 1987.

ROLSTON, M.P. Water impermeable seed dormancy. **Botanical Review**, v.44, n.3, p.365-396, 1978.

SALISBURY, F.B.; ROOS, C.W. **Fisiologia vegetal**. 1994. 759p.

SANTA-CATARINA, C.; MACIEL, S.C.; PEDROTTI, E.L. Germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.4, dez, 2001.

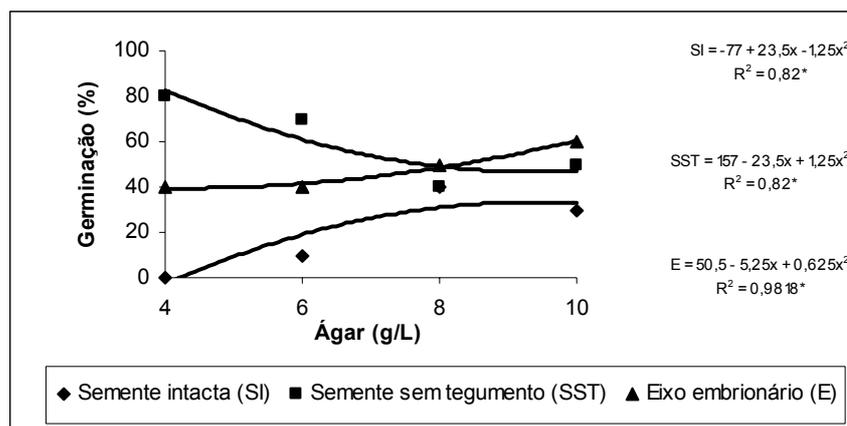
SLVA, J.M.O.D.; OLTRAMARI, A.C.; MARASCHIN, M.; PEDROTTI, E.L. Cultura de embriões imaturos e organogênese: aspectos biotecnológicos da canela sassafrás. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. n.20. mai/jun. 2001.

SPERA, M.R.N.; CUNHA, R.; TEIXEIRA, J.B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.12, p.1567-1572, dez. 2001.

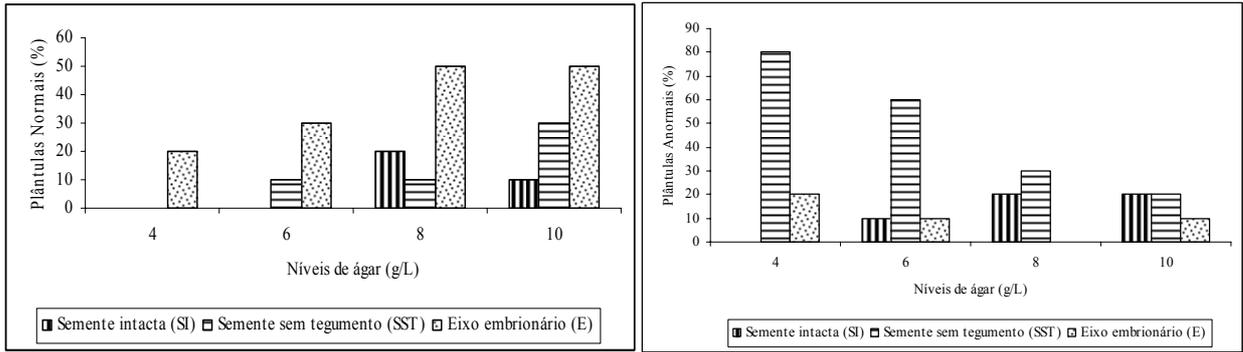
TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

WILLIAMS, R.J.; LEOPOLD, A.C. The glassy state in corn embryos. **Plant Physiology**, v.89, p.977-981, 1989.

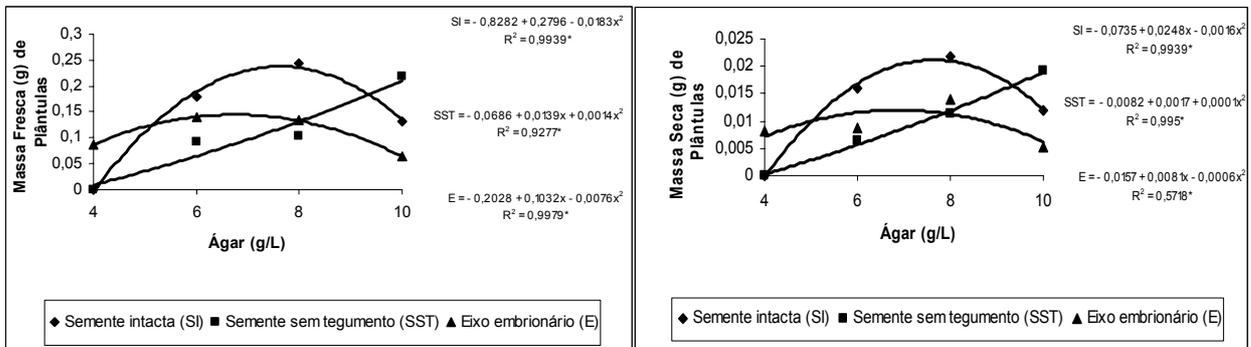
ZHANG, Y.X.; LESPINASSE, Y. 1991. Removal of embryonic dormancy in apple (*Malus domestica* Borkh) by 6-benzylaminopurine. **Scientia Horticulturae**, n.46, p.215-223.



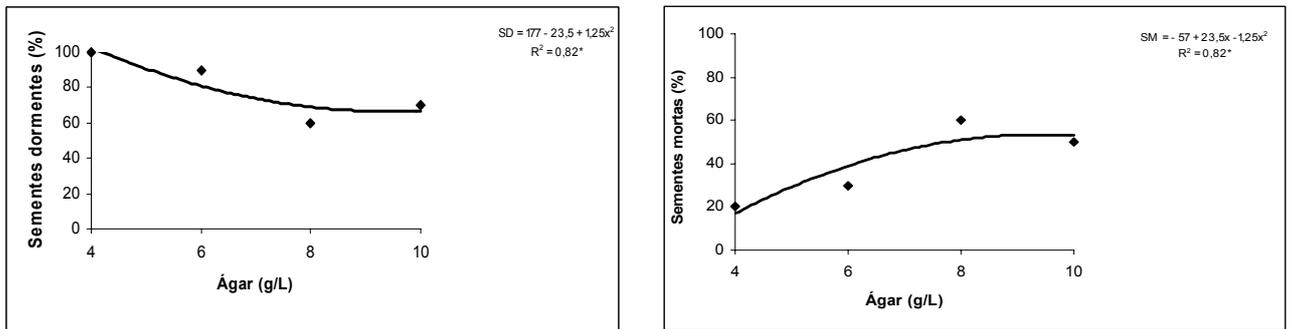
**FIG. 1.** Germinação (%) de sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST) e desenvolvimento de eixos embrionários (E) de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes níveis de ágar.



**FIG. 2.** Porcentagem de plântulas normais (A) e plântulas anormais (B) na germinação de sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST) e desenvolvimento de eixos embrionários (E) de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes níveis de ágar.

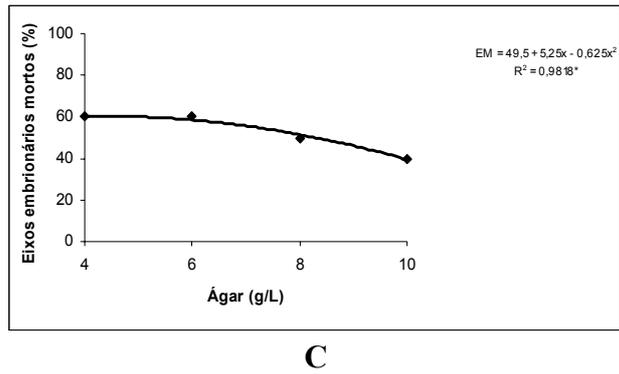


**FIG. 3.** Massa fresca (g) e seca (g) de plântulas normais de sementes intactas (SI), sementes sem tegumento (SST) e eixos embrionários (E) de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes níveis de ágar.



A

B



**FIG. 4.** **A** – Sementes dormentes (%), **B** – Sementes mortas (%), **C** – Eixos embrionários mortos (%) de urucu (*Bixa orellana* L.) em diferentes níveis de ágar.

## CONCLUSÕES GERAIS

Levando-se em consideração o cultivar utilizado e as condições nas quais este trabalho foi desenvolvido, pode-se concluir que:

a maturação fisiológica das sementes é atingida aos 77 dias após a antese;

o teor de água e a massa seca são os índices que melhor caracterizam a maturação e época de coleta das sementes;

maior porcentagem de germinação e teores mais elevados do pigmento bixina são obtidos aos 77 dias após a antese, época em que a colheita deve ser realizada;

sementes de *Bixa orellana* apresentam dormência imposta pelo tegumento após a maturação fisiológica, com baixa porcentagem de germinação;

após a completa maturação, os frutos apresentam deiscência e as sementes apresentam-se com coloração com tonalidade enegrecida;

em testes de germinação de sementes de *Bixa orellana* L. as temperaturas recomendadas são 25, 30 e 20-30°C;

as sementes devem ser colocadas para germinar nos substratos areia, vermiculita e rolo de papel;

a maior porcentagem de germinação *in vitro* ocorre em sementes sem tegumento mantidas em ágar na concentração de 4 g L<sup>-1</sup>;

maiores massas fresca e seca ocorrem em plântulas oriundas de sementes sem tegumento mantidas em ágar na concentração de 10 g L<sup>-1</sup>.



**ANEXOS**

**Figura 1A** – Planta de urucuzeiro (*Bixa orellana* L.).



**Figura 2A** – Botão floral, flor, frutos e sementes de urucuzeiro.

